

Universidad Pública de Navarra

Nafarroako Unibertsitate Publikoa

**ESCUELA TECNICA SUPERIOR
DE INGENIEROS AGRONOMOS**

***NEKAZARITZAKO INGENIARIEN
GOI MAILAKO ESKOLA TEKNIKO***

EFEECTO DE LA TEMPERATURA EN LA CLARIFICACIÓN DE VINOS TINTOS CON PROTEÍNA DE PATATA

presentado por

Jorge Becerril Eraso (e)k

aurkeztua

**GRADO EN INGENIERÍA AGROALIMENTARIA Y DEL MEDIO RURAL
*GRADUA NEKAZARITZAKO ELIKAGAIEN ETA LANDA INGURUNEAREN INGENIARITZAN***

Enero, 2015 / 2015, Urtarrila

RESUMEN

En este trabajo fin de grado se ha estudiado el papel que juega la temperatura en el proceso de clarificación cuando se emplea un clarificante de origen vegetal como es la proteína de patata. Los ensayos se realizaron a 12, 16 y 20 °C y se emplearon tres dosis de clarificante (1, 3 y 5 g/hL) en un vino tinto joven de la variedad Tempranillo.

Se determinó el efecto de la temperatura en la composición final del vino y en los parámetros tecnológicos de la clarificación, y también se realizó un estudio de la cinética de la clarificación. Además, estos resultados fueron comparados con los obtenidos por dos gelatinas, uno de los clarificantes de origen animal más utilizados en la actualidad.

Los resultados demostraron que la temperatura sí afecta a los parámetros estudiados en el vino clarificado y al proceso de clarificación. También se comprobó que la proteína de patata puede ser una buena alternativa a los clarificantes de origen animal, ya que permite reducir la astringencia sin modificar el color del vino y consigue reducir la turbidez en valores similares a las gelatinas a la vez que genera menor cantidad de lías.

Palabras clave: clarificación, vino tinto, proteína de patata, clarificantes de origen vegetal, temperatura.

ABSTRACT

In this work it is been studied the role of temperature in the process of wine fining when a fining agent of plant origin as potato protein is used. Assays were performed at 12, 16 and 20 °C and three doses of fining agent were used (1, 3 and 5 g/hL) on a Tempranillo red wine.

The effect of temperature on wine's final composition and the clarification technological parameters was determined, and a study of the kinetics of clarification was also performed. Furthermore, these results were compared with those obtained by two gelatins, one of the fining agents of animal origin most commonly used today.

The results showed that the temperature does affect the parameters studied on the clarified wine and the clarification process. It was also verified that potato protein can be a good alternative to the fining agents of animal origin, since it allows to reduce the astringency without modifying the color of the wine and it is able to reduce the turbidity in similar values to the gelatins while lower amounts of lees are generated.

Keywords: fining, red wine, potato protein, fining agents of plant origin, temperature.

Agradecemos a la casa comercial Laffort por haber suministrado las muestras de proteína de patata para la realización de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	1
1.1. LOS COLOIDES	1
1.1.1. Sistemas coloidales	1
1.1.2. Tipos de coloides presentes en el mosto y el vino	2
1.2. CLARIFICACIÓN	3
1.2.1. La clarificación dentro del proceso de elaboración del vino tinto	4
1.2.2. Técnicas de clarificación	5
1.3. CLARIFICACIÓN POR ENCOLADO	5
1.3.1. Teorías del encolado mediante proteínas	6
1.3.2. Objetivos del encolado	7
1.3.3. Factores que afectan en la clarificación por encolado	7
1.3.4. Agentes clarificantes	9
1.3.5. Práctica del encolado	9
1.3.5.1. Ensayo previo: elección del clarificante	9
1.3.5.2. Tecnología de la clarificación	10
1.4. PROTEÍNAS DE ORIGEN VEGETAL	11
1.4.1. Estudios de encolado con proteínas de origen vegetal	11
1.4.2. Estudios de encolado con proteína de patata	14
1.5. OBJETIVO	15
2. MATERIAL Y MÉTODOS	17
2.1. DISEÑO EXPERIMENTAL	17
2.2. PLAN DE TRABAJO	18
2.2.1. Caracterización del vino	18
2.2.2. Elección dosis clarificantes	18
2.2.3. Ensayos de clarificación	19
2.2.4. Análisis de los ensayos de clarificación	19
2.2.5. Análisis estadístico de los resultados y discusión	19
2.3. MATERIAL	19
2.3.1. Vino	19
2.3.2. Clarificantes	19
2.3.2.1. Proteína de patata	20
2.3.2.2. Gelatinas	20
2.4. MÉTODOS	20
2.4.1. Caracterización del vino	20
2.4.2. Análisis de los compuestos fenólicos	20
2.4.3. Análisis del color	21
2.4.4. Ensayos de clarificación	21

2.4.4.1.	Elección de la dosis de clarificante	21
2.4.4.2.	Preparación del clarificante	22
2.4.4.3.	Preparación muestras	23
2.4.5.	Parámetros tecnológicos de la clarificación	23
2.4.5.1.	Reducción de la turbidez	23
2.4.5.2.	Volumen de lías	23
2.4.6.	Cinética de la clarificación	23
2.4.7.	Repetitividad análisis	24
2.4.8.	Análisis estadístico	24
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
3.1.	CARACTERIZACIÓN DEL VINO	25
3.2.	ELECCIÓN DE LAS DOSIS DE LAS GELATINAS	26
3.2.1.	Efecto de las dosis de las gelatinas en los compuestos fenólicos	26
3.2.2.	Efecto de la dosis de las gelatinas en el color	29
3.2.3.	Efecto de la dosis de las gelatinas en los parámetros tecnológicos de la clarificación	30
3.2.4.	Elección de las dosis de las gelatinas	32
3.3.	ESTUDIO COMPARATIVO DE LA INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA Y LA DOSIS SOBRE LA COMPOSICIÓN DEL VINO CLARIFICADO Y LOS PARÁMETROS TECNOLÓGICOS DE LA CLARIFICACIÓN	32
3.3.1.	Efecto de los factores estudiados sobre los compuestos fenólicos	33
3.3.1.1.	Índice de Polifenoles Totales	34
3.3.1.2.	Cantidad de antocianos totales	35
3.3.1.3.	Cantidad de taninos totales	37
3.3.1.4.	Índice de etanol	39
3.3.1.5.	Índice de gelatina	40
3.3.2.	Efecto de los factores estudiados sobre el color	42
3.3.2.1.	Intensidad colorante	42
3.3.2.2.	Tonalidad	44
3.3.3.	Efecto de los factores estudiados sobre los parámetros tecnológicos de la clarificación	46
3.3.3.1.	Reducción de turbidez	46
3.3.3.2.	Volumen de lías	47
3.4.	ESTUDIO DE LA CINÉTICA DE LA CLARIFICACIÓN	49
3.4.1.	Capacidad de floculación	52
3.4.2.	Capacidad de clarificación	53
3.4.3.	Velocidad de floculación y sedimentación	53
4.	CONCLUSIONES	57
5.	BIBLIOGRAFÍA	59
6.	ANEXOS	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Diagrama de flujo de vino tinto joven.	4
Figura 3.1. Valores del IPT en función de las dosis de Vinigel AT y Vinigel GR.	27
Figura 3.2. Cantidad de antocianos totales en función de las dosis de Vinigel AT y Vinigel GR.	27
Figura 3.3. Cantidad de taninos totales en función de las dosis de Vinigel AT y Vinigel GR.	28
Figura 3.4. Valores del índice de etanol en función de las dosis de Vinigel AT y Vinigel GR.	29
Figura 3.5. Intensidad colorante en función de las dosis de Vinigel AT y Vinigel GR.	29
Figura 3.6. Tonalidad en función de las dosis de Vinigel AT y Vinigel GR.	30
Figura 3.7. Reducción de la turbidez en función de las dosis de Vinigel AT y Vinigel GR.	31
Figura 3.8. Volumen de lías en función de las dosis de Vinigel AT y Vinigel GR.	31
Figura 3.9. Valores del IPT en función de la temperatura y de la dosis de proteína.	35
Figura 3.10. Antocianos totales en función de la temperatura y la dosis de proteína.	36
Figura 3.11. Taninos totales en función de la temperatura y de la dosis de proteína.	38
Figura 3.12. Índice de etanol en función de la temperatura y de la dosis de proteína.	40
Figura 3.13. Índice de gelatina en función de la temperatura y la dosis de proteína.	41
Figura 3.14. Intensidad colorante en función de la temperatura y de la dosis de proteína.	43
Figura 3.15. Tonalidad en función de la temperatura y de la dosis de proteína.	45
Figura 3.16. Reducción de la turbidez en función de la temperatura y de la dosis de proteína.	47
Figura 3.17. Volumen de lías en función de la temperatura y de la dosis de proteína.	48
Figura 3.18. Cinética de la clarificación a 12 °C. (A) Representación de la turbidez (NTU) durante 48 horas, y (B) Turbidez (NTU) en los primeros 60 minutos tras la adición del clarificante.	50
Figura 3.19. Cinética de la clarificación a 16 °C. (A) Representación de la turbidez (NTU) durante 48 horas, y (B) Turbidez (NTU) en los primeros 60 minutos tras la adición del clarificante.	51
Figura 3.20. Cinética de la clarificación a 20 °C. (A) Representación de la turbidez (NTU) durante 48 horas, y (B) Turbidez (NTU) en los primeros 60 minutos tras la adición del clarificante.	52
Figura 3.21. Velocidades de floculación y de sedimentación. (A): Temperatura de 12 °C; (B): Temperatura de 16 °C; (C): Temperatura de 20 °C.	54

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1. Diseño experimental.	18
Cuadro 2.2. Repetitividad análisis compuestos fenólicos y color.	24
Cuadro 3.1. Caracterización del vino.	25
Cuadro 3.2. Compuestos fenólicos y color del vino sin tratar.	26
Cuadro 3.3. Significación estadística (valores p) para los factores temperatura, dosis y su interacción.	33
Cuadro 3.4. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) del IPT según la dosis para cada temperatura.	34
Cuadro 3.5. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) de los antocianos totales según la temperatura y la dosis.	36
Cuadro 3.6. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) de los taninos totales según la dosis para cada temperatura.	37
Cuadro 3.7. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) del índice de etanol según la dosis para cada temperatura.	39
Cuadro 3.8. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) del índice de gelatina según la dosis y para cada temperatura.	41
Cuadro 3.9. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) de la intensidad colorante según la dosis y para cada temperatura.	43
Cuadro 3.10. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) de la tonalidad según la dosis y para cada temperatura.	44
Cuadro 3.11. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) de la reducción de turbidez según la temperatura y la dosis.	46
Cuadro 3.12. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) del volumen de lías según la temperatura y la dosis.	48
Cuadro 3.13. Capacidad de floculación en NTU.	52
Cuadro 3.14. Capacidad de clarificación en NTU.	53

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

En la actualidad la limpidez es uno de los factores que el consumidor exige a los vinos, ante la creencia de que un signo de turbidez significa necesariamente una alteración de sus cualidades organolépticas y esto puede ser cierto en algunos casos, pero en muchos otros esto no es así (Hidalgo, 2011). Para asegurar la ausencia de turbidez en el tiempo el vinificador deberá clarificar y después estabilizar el vino con respecto a defectos de limpidez o desequilibrios fisicoquímicos o microbiológicos.

El aspecto turbio de un vino se debe a la presencia de partículas dispersas en él que interceptan la radiación luminosa que viene de una dirección y la refleja en otras direcciones diferentes, haciéndolos tomar un aspecto opaco y turbio. Este grupo de partículas causantes de la turbidez son sustancias que pueden encontrarse ya en el vino o formarse durante el proceso de vinificación (materia colorante en estado coloidal, cristales de tartrato potásico, precipitados de compuestos fenólicos, proteínas...).

Es cierto que la eliminación de estas partículas puede llegar a producirse de manera natural, ya que el vino después de un prolongado reposo tiende a *clarificarse* por sedimentación de estas partículas enturbiantes y a *estabilizarse* como consecuencia de las precipitaciones de origen químico y químico-físico que se realizan por acción del tiempo, pero estos lentos procesos son insuficientes y requieren varios años para que probablemente el vino alcance la limpidez y estabilidad deseada (Molina, 2000). Por este motivo es más común aplicar en bodega otras técnicas que actúan con más rapidez como son la clarificación por encolado, la filtración o la centrifugación, con las que además de limpiar los vinos en distinto grado se puede conseguir un cierto grado de estabilización.

La obtención de un vino límpido y estable puede hacer recurrir a un número considerable de prácticas posiblemente acumuladas y repetidas con resultados a veces imperfectos, mientras que numerosos vinos poco tratados producen una total satisfacción. Esto demuestra claramente que el procedimiento de clarificación-estabilización de los vinos debe ser reflejado caso por caso para obtener los mejores resultados con el mínimo tratamiento. Se debe elegir el mejor tratamiento (producto o técnica), en el mejor momento (lo más preventivamente posible), con la intensidad mínima pero suficiente (Blouin y Peynaud, 2004).

1.1. LOS COLOIDES

1.1.1. Sistemas coloidales

Atendiendo a la clasificación que realiza Hidalgo (2011), según sea el tamaño de las partículas se distinguen los siguientes tipos de soluciones:

- “Soluciones verdaderas o moleculares” con dimensiones de partículas más pequeñas que los 2 nm. Presentan las propiedades de atravesar los filtros y ultrafiltros, no sedimentando, y siendo invisibles al microscopio y al ultramicroscopio.
- “Soluciones o dispersiones coloidales” con tamaño de partículas entre los 2 a 1000 nm. Presentan las propiedades de atravesar los filtros, pero no los ultrafiltros, siendo visibles al ultramicroscopio, y pudiendo sedimentar muy lentamente.

- “Suspensiones clásicas” con tamaño de partículas superiores a los 1000 nm. Presentan las propiedades de no atravesar los filtros, siendo visibles al microscopio, y sedimentando rápidamente.

En el segundo grupo de esta clasificación se encuentran las soluciones coloidales, que están compuestas por pequeñas partículas sólidas (coloides) que se mantienen dispersas en un líquido debido a la acción de un conjunto de fuerzas que impiden su agregación y, por lo tanto, su floculación. Los coloides abarcan desde agrupaciones inestables de moléculas bastante pequeñas como precipitados de compuestos fenólicos, hasta moléculas muy grandes que fijan el agua, estables como polisacáridos o proteínas.

La importancia de su estudio en el campo de la enología se debe a que los coloides no son visibles directamente, pero absorben y/o desvían la luz (efecto “Tyndall”) y de esta manera son responsables de la ausencia de limpidez. Cuando se encuentran en los vinos, estas partículas tienen cargas eléctricas negativas, y a su vez están rodeadas de cargas positivas (el vino es eléctricamente neutro). Este reparto de cargas varía con la composición y con el pH de posibles mezclas (Blouin *et al.*, 2004).

Tanto los mecanismos de formación de turbiedades en los vinos como los tratamientos para conseguir evitarlos dependen de las propiedades de los coloides. Generalmente, estos mecanismos comprenden dos etapas: la primera corresponde a una reacción química que forma una sustancia coloidal que permanece en solución límpida; la segunda etapa corresponde a la asociación de los coloides en partículas que floculan, produciendo la formación de un enturbiamiento en el vino.

1.1.2. Tipos de coloides presentes en el mosto y el vino

Los coloides pueden diferenciarse según su afinidad por el medio en el que se encuentran (en este caso el agua), distinguiendo así entre coloides hidrófobos y coloides hidrófilos.

- Coloides hidrófobos

En este grupo se encuentran los coloides constituidos por micelas, es decir, por agregados de una gran cantidad de moléculas simples. Estas moléculas están unidas entre sí por uniones físicas, de poca energía, que aseguran su cohesión.

Los coloides hidrófobos tienen la característica de ser inestables y son el origen de turbios y precipitados en el vino. La estabilidad de estos coloides está asociada a la carga eléctrica, que debido al pH del mosto y del vino es negativa. Por lo tanto, la presencia de cationes y proteínas de encolado (que al pH del mosto y del vino tienen carga positiva) producirá su floculación y luego su precipitación. Este fenómeno interviene en la mayoría de los enturbiamientos que pueden presentarse espontáneamente en los vinos.

Por otra parte, existen una serie de compuestos denominados “coloides protectores”, que son capaces de impedir la floculación de los coloides hidrófobos. Algunos de estos compuestos están presentes en el vino, pero también es frecuente añadirlos antes del embotellado.

En el vino, los coloides hidrófobos se pueden formar naturalmente durante la conservación (compuestos fenólicos condensados y materia colorante coloidal), accidentalmente (fosfato férrico, sulfuro de cobre) o al término de ciertos tratamientos (ferrocianuro férrico, sulfuro de cobre) (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2002).

- Coloides hidrófilos

Este conjunto de coloides está formado por macromoléculas como polisacáridos o proteínas, en las cuales intervienen únicamente uniones químicas covalentes.

A diferencia de los coloides hidrófobos, su estabilidad no depende solamente de su carga eléctrica. Debido a su carácter hidrófilo poseen la capacidad de hidratarse y esto les confiere un segundo factor de estabilidad (esto significa que para que se produzca la floculación de un coloide hidrófilo será necesario que se supriman estos dos factores de estabilidad). De este modo, la floculación de un coloide de este tipo podrá llevarse a cabo independientemente por medio de una de las siguientes vías: deshidratación y posterior descarga o descarga y deshidratación final.

Gracias a su capacidad de hidratación algunos de estos coloides hidrófilos (polisacáridos) pueden actuar como coloides protectores sobre los coloides hidrófobos, impidiendo así su floculación. Se entiende entonces que la presencia de polisacáridos naturales con propiedades de coloides protectores se opone a la formación de enturbiamientos y depósitos, y por ello hay ocasiones en las que es interesante aumentar ese efecto protector añadiendo un coloide protector como lo es la goma arábiga.

Sin embargo, la presencia de estos compuestos también puede tener consecuencias negativas, ya que al oponerse a la formación de enturbiamientos también se oponen a la formación de las turbiedades que se producen durante la clarificación de los vinos. En estos casos la sedimentación de las partículas se puede volver lenta y el encolado se ve afectado porque la cola no flocula bien.

Los coloides hidrófilos macromoleculares presentes en el vino pueden ser de origen endógeno o exógeno. Las macromoléculas de origen endógeno son proteínas y polisacáridos procedentes de la uva, mientras que los coloides hidrófilos de origen exógeno son manoproteínas liberadas por las levaduras durante la fermentación alcohólica y el envejecimiento con lías, glucanos producidos por *Botrytis cinerea* y polisacáridos liberados por las bacterias lácticas (Flanzy, 2003).

1.2. CLARIFICACIÓN

La clarificación de los vinos es una práctica muy utilizada en enología, pero opcional dentro del proceso de vinificación. Su objetivo principal es el de eliminar la turbidez del vino, formada por partículas visibles y/o que absorben o desvían la luz (Blouin *et al.*, 2004).

1.2.1. La clarificación dentro del proceso de elaboración del vino tinto

A continuación se muestra el diagrama de flujo típico en el proceso de elaboración de un vino tinto joven:

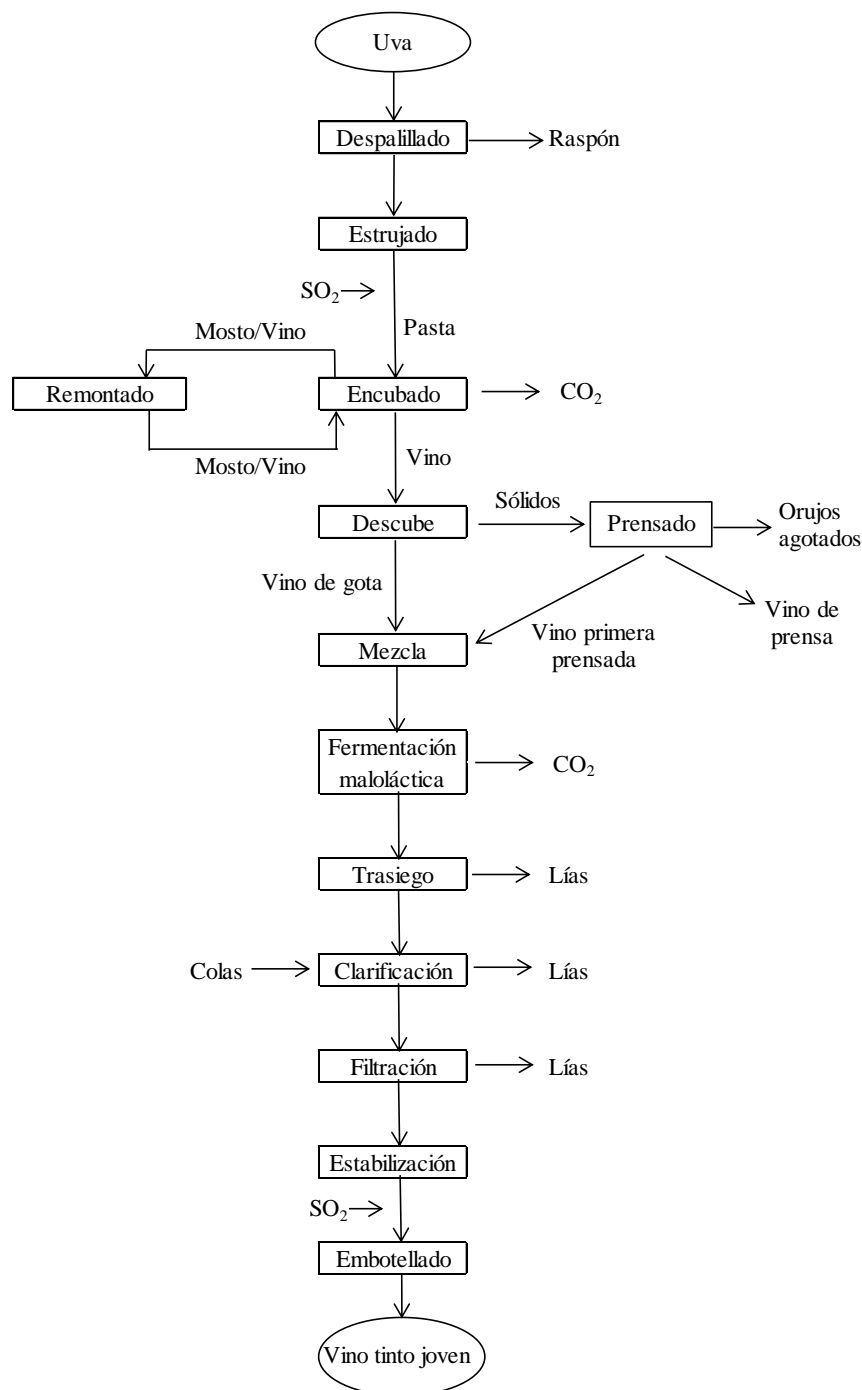


Figura 1.1. Diagrama de flujo de vino tinto joven.

Como se observa en la figura 1.1., la clarificación suele realizarse habitualmente una vez ha finalizado la fermentación maloláctica. En este momento el vino está cargado de materias sólidas en suspensión, siendo conocidos como “vinos en rama”. Estas partículas y sustancias en suspensión están formados por restos vegetales (fracciones de raspón, de piel, de pulpa, etc.), levaduras y otros microorganismos.

1.2.2. Técnicas de clarificación

Las diferentes técnicas de clarificación nacen como respuesta a la necesidad de prevenir o corregir los enturbiamientos producidos en el vino. Dentro de estas técnicas se han de diferenciar la clarificación natural o espontánea y la clarificación provocada.

La primera de ellas consiste en la caída lenta y progresiva de las partículas en suspensión del vino por acción de la gravedad. Este proceso depende de los siguientes factores: características de las partículas (masa, volumen y carga eléctrica), factores que influyen en la resistencia que ejerce el vino frente a la caída de la partícula (densidad, pH y viscosidad del vino, y presencia de coloides protectores) y otros factores externos (temperatura, oxígeno, características constructivas del depósito...).

Una vez se encuentran las partículas en el fondo del depósito se lleva a cabo el trasiego, un proceso que consiste en separar los sedimentos que se han acumulado en la parte baja del depósito del vino más o menos limpio situado por encima. La ocasión y el número de trasiegos son muy variables, pues dependen del volumen de los sedimentos formados, así como de otras circunstancias que pudieran reducir la calidad del vino almacenado.

La clarificación espontánea del vino acompañado de los sucesivos trasiegos para eliminar sus sedimentos tiene varios inconvenientes, ya que además de ser una técnica lenta, casi nunca produce una completa limpieza de los vinos y tampoco permite su total estabilización frente a posibles quiebras o precipitaciones.

Por este motivo es común practicar en bodega las técnicas de clarificación provocada, que consisten en añadir productos clarificantes capaces de coagularse en el vino y producir grumos. La formación de estos grumos y su sedimentación arrastran las partículas del enturbiamiento y de esta forma clarifican el vino. Este proceso tiene además un efecto estabilizante porque al arrastrar estas partículas también suelen arrastrar otras partículas coloidales susceptibles de provocar turbidez con posterioridad, previniendo así posibles enturbiamientos posteriores.

1.3. CLARIFICACIÓN POR ENCOLADO

La clarificación por encolado consiste en la introducción en el vino de una proteína (cola) cuya floculación arrastra partículas que enturbian el vino y otras que son susceptibles de enturbiarlo. Tiene por lo tanto un efecto clarificante y un efecto estabilizante (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2002).

Debido a la complejidad del comportamiento de las proteínas en el vino, a lo largo de los años han aparecido diversas teorías que explican este proceso.

1.3.1. Teorías del encolado mediante proteínas

- Teoría de Rüdiger y Mayr (1928 y 1929)

Esta primera aproximación teórica del encolado de los vinos presenta el encolado como un juego de cargas y descargas de partículas coloidales. Estos autores muestran por electroforesis que las proteínas que actúan como clarificante están cargadas positivamente con el pH del vino y que las partículas que producen la turbidez de los vinos están cargadas negativamente. El resultado del encolado depende de la descarga recíproca de las partículas presentes.

- Teoría de Ribéreau-Gayon (1934)

Los trabajos de estos autores muestran que los mecanismos del encolado son más complejos, y que el proceso se puede dividir en dos fases: floculación y clarificación.

La primera de ellas resultaría de la reacción de las proteínas de la cola con los taninos de los vinos tintos. Estos últimos transforman las proteínas, coloides hidrófilos cargados positivamente, en coloides hidrófobos cargados negativamente. Por lo tanto se forman complejos entre proteínas y taninos dependiendo de numerosos factores como el pH, la temperatura, la concentración en taninos...etc. Estos complejos permanecen estables en solución límpida y precipitan en presencia de cationes metálicos.

Por otra parte, la segunda fase (la clarificación) corresponde a la eliminación de las materias en suspensión en el vino y comprende un conjunto de fenómenos complejos que hacen intervenir la cola y los elementos de turbiedad. Las proteínas que todavía no han reaccionado con los taninos pueden combinarse con las partículas en suspensión o solución coloidal, la mayoría de las cuales están cargadas negativamente.

- Teoría de Salgues y Razungles (1983)

Estos autores continúan con la idea de las teorías anteriores a la vez que consideran que el encolado provoca las siguientes reacciones entre los coloides del vino y la cola: atracción, repulsión, hidratación y deshidratación de partículas de dimensiones inferiores a 0,1 μm .

- Teorías más recientes

Lagunes-Ammirati y Glories (1996) apuntaron que los mecanismos que intervienen durante el encolado dependen de las nociones de potencial de derrame y de densidad de cargas de superficie. Así, definieron el modelo de la doble capa, que se basa en lo siguiente: la superficie cargada de una partícula en solución acuosa está rodeada por una primera capa de iones de carga opuesta, denominada capa fija. A su vez, el conjunto de partícula y capa fija está rodeado por una segunda capa de contra-iones (capa difusa). La capa fija solo compensa parcialmente la carga inicial de la partícula, por lo que existen cargas residuales que son las responsables de que se cree una diferencia de potencial. Este potencial (también conocido como potencial Zeta) es el que interviene en los mecanismos de interacción entre iones y partículas y también en sus comportamientos con respecto a los fenómenos de coagulación, floculación y sedimentación.

1.3.2. Objetivos del encolado

Según lo descrito por Hidalgo (2011), con la práctica del encolado se pueden conseguir varios objetivos muy beneficiosos para el proceso de vinificación:

- Limpieza en los vinos de las partículas que contiene en suspensión, mediante la aplicación de una técnica de bajo coste y buenos resultados, que a pesar de ser insuficiente en algunos casos, mejora de manera notable la eficacia de los sistemas de filtración utilizados con posterioridad, y por lo tanto optimizando su coste.
- Estabilización de los vinos favoreciendo o induciendo a la precipitación de ciertas sustancias coloidales capaces de formar turbideces con posterioridad, sirviendo también como clarificante auxiliar o de arrastre para eliminar los coloides formados por determinados tratamientos del vino.
- Mejora de las características organolépticas de los vinos, mediante la atenuación o eliminación de aromas defectuosos, y ocasionando una reducción en el vino de los compuestos volátiles aromáticos, cuya disminución depende del tipo de clarificante utilizado, aunque esta pérdida se compensa por una mejora en la finura de los vinos. Del mismo modo esta práctica elimina en el vino los taninos más simples y reactivos con las proteínas, que presentan sensorialmente mayores sensaciones de aspereza y astringencia, aunque también reducen en parte la fracción de los taninos combinados con los polisacáridos de caracteres gustativos positivos.

1.3.3. Factores que afectan en la clarificación por encolado

Tal y como describe Hidalgo (2011), dentro de este proceso intervienen diversos factores:

- Interacción entre proteínas y taninos

Para una misma adición de proteínas la cantidad de taninos que reaccionan aumenta cuanto mayor sea su concentración en el vino. Sin embargo, tal y como muestra Lagune-Ammirati (1994), esto no siempre ocurre así. Del mismo modo, la interacción proteínas-taninos es mayor cuando también lo es el grado de polimerización de los taninos.

Por otra parte, de manera general cuanto mayor sea la adición de proteínas también es mayor la cantidad de taninos eliminada. No obstante esta relación no es proporcional ya que depende de las características de la proteína (las proteínas de pequeño tamaño presentan una peor afinidad por los taninos) y también de su composición (proteínas más ricas en prolina presentan mejor afinidad para los taninos). Las mejores proteínas son las que ofrecen una mayor densidad de carga eléctrica.

- Acidez y pH del vino

En los niveles de pH que presentan generalmente los vinos, la interacción entre las proteínas y los taninos es tanto mejor, y la precipitación es más rápida, cuando la acidez del medio es más baja. La explicación a este fenómeno se debe posiblemente a una modificación de la carga eléctrica de los taninos, reduciéndose su densidad a medida que el pH baja.

- Cationes en el vino

La presencia en el vino de cationes como: calcio, sodio, potasio, magnesio, hierro, etc., es indispensable para la floculación y sedimentación de las proteínas con los taninos, pues según el mecanismo de la clarificación, los cationes descargan los coloides hidrófilos negativos del complejo tanino-proteína formado.

- Nivel de oxidación del vino

Los vinos con un potencial de oxidación elevado siempre presentan un mejor comportamiento de la clarificación proteica, por lo que en ocasiones se facilita la operación del encolado realizando un trasiego con aireación algunos días antes; esta disolución de oxígeno permite la formación del catión hierro trivalente, que flocula el coloide hidrófobo negativo formado entre las proteínas y los taninos añadidos.

- Influencia de la temperatura

Las temperaturas bajas por debajo de los 15 °C favorecen la precipitación y la clarificación con las proteínas, debido a la disminución del movimiento browniano de los coloides, que facilita la floculación de los mismos. La gelatina es la cola más sensible a este fenómeno, donde por encima de los 25 a 30 °C la clarificación es más complicada. Otros clarificantes proteicos como las albúminas y la caseína son menos sensibles a la acción de las temperaturas elevadas.

- Influencia del alcohol

El alcohol provoca una disminución de la afinidad de los taninos con las proteínas, así como también una disminución de la solubilidad de los coloides formados.

- Presencia de coloides protectores

Los polisacáridos del vino presentan efectos dispares sobre la clarificación con las proteínas, pues por una parte se pueden comportar como coloides protectores, que llegan a impedir una correcta sedimentación (goma arábica, glucano); mientras que por otra parte otros polisacáridos pueden presentar una acción activadora de la clarificación (pectinas, arabino-galactanos, ácido poligalacturónico).

1.3.4. Agentes clarificantes

El uso de los agentes clarificantes está regulado por el Reglamento (CE) nº 606/2009, el cual dictamina cuáles son las sustancias que pueden utilizarse en la práctica. Actualmente, las sustancias permitidas son las siguientes: gelatina alimentaria, materias proteicas de origen vegetal procedentes del trigo, del guisante y de patata, cola de pescado, caseína y caseinatos de potasio, albúmina de huevo, bentonita, dióxido de silicio en forma de gel o de solución coloidal, caolín, taninos, enzimas pectolíticas y preparados enzimáticos de betaglucanasa.

1.3.5. Práctica del encolado

1.3.5.1. *Ensayo previo: elección del clarificante*

Cada uno de los clarificantes nombrados en el apartado anterior actúa de forma diferente en el proceso del encolado de un vino dependiendo de la naturaleza proteica de la cola, de la constitución fenólica del vino, de su estructura coloidal y de la naturaleza de las partículas en suspensión.

Por este motivo, y para asegurar que esta práctica se lleva a cabo de la mejor manera posible, es necesario realizar un ensayo de clarificación previo. En un ensayo de este tipo se deben buscar las dosis mínimas de colas y de floculantes que permitan limpiar y estabilizar los vinos, y siempre acompañado de una mejora sensorial de los mismos.

Este ensayo consiste en probar, en un volumen pequeño del vino que se va a clarificar (por ejemplo, 1 litro), cómo actúan uno o varios clarificantes a diversas dosis. Estos resultados serán una aproximación de lo que se producirá en la clarificación, ya que no es posible reproducir con total exactitud el comportamiento que va a tener un clarificante en un gran depósito con este ensayo a pequeña escala. Sin embargo, sí son suficientes para decidir cuál es el clarificante que mejor funciona en ese vino en particular y cuál es su dosis más adecuada.

Los parámetros a valorar en estos ensayos son los siguientes:

- Tiempo de aparición de la floculación, que corresponde a la rapidez de coagulación del clarificante.
- Rapidez en la sedimentación de los flóculos formados al adicionar el clarificante.
- Limpidez obtenida en el vino después de la sedimentación tras un periodo de reposo suficiente. Se expresa en términos de turbidez, y concretamente se evalúa la reducción de turbidez que se produce en el vino tras la clarificación.
- Volumen y compacidad de las lías formadas. Este parámetro es importante ya que en la práctica en bodega, el volumen de las lías condicionará el posterior trasiego en el cual se separará el vino limpio de todas las partículas acumuladas en el fondo del depósito. Por lo tanto, cuanto mayor sea el volumen de las lías, esto conllevará una mayor pérdida de vino.

- Comprobación de que el clarificante no produce sobreencolado.
- Evaluación sensorial del vino clarificado, donde se analicen las consecuencias organolépticas de los diferentes encolados. Es deseable procurar el encolado mínimo que produzca un afinamiento de la estructura tánica, pero sin adelgazar el vino.

En conclusión, se considerará mejor clarificante aquel que genere una coagulación y sedimentación de los flóculos rápida; que provoque una mayor reducción de turbidez en el vino y, por tanto, una mayor limpidez; que produzca el menor volumen de lías posible y que la compacidad de éstas sea elevada; que no cause sobreencolado y que, en la medida de lo posible, ocasione una mejora sensorial del vino.

1.3.5.2. Tecnología de la clarificación

Una vez escogido el clarificante y ajustada su dosis, para asegurarse de que el encolado se desarrolla de manera óptima han de seguirse las siguientes pautas (Blouin *et al.*, 2004):

- Preparación del vino: sulfitado, trasiego, mezcla según las necesidades.
- Conservación de los productos en recipientes cerrados, en las condiciones descritas por el suministrador.
- Respeto estricto del producto elegido y de la dosis.
- Preparación de soluciones o suspensiones de clarificantes en concentraciones adaptadas.
- Incorporación progresiva, en circuito cerrado o abierto, mediante inyector o dosificador. Terminar con una homogeneización por bombeo, agitación, o removido con gas inerte.
- Dejar precipitar el clarificante el tiempo suficiente, evitando superar de 15 a 30 días con los clarificantes orgánicos. Durante este tiempo el vino debe permanecer en absoluto reposo y con una temperatura continua. Si es necesario filtrar.
- Separar cuidadosamente las lías del vino limpio, sin que se vuelvan a mezclar.
- Verificar la calidad analítica (turbidez) y gustativa del resultado.

1.4. PROTEÍNAS DE ORIGEN VEGETAL

Los problemas de seguridad alimentaria relacionados con la Encefalopatía Espongiforme Bovina en el año 1996 provocaron el abandono de las gelatinas procedentes de bovino en favor de las gelatinas de origen porcino. Además, la desconfianza creada por este tipo de productos de origen animal impulsó el estudio de las proteínas de origen vegetal como alternativa para su uso en enología.

Tras varios años de estudios sobre el comportamiento de estos nuevos agentes clarificantes, en diciembre de 2005 se aprobó el Reglamento (CE) nº 2165/2005 que autoriza la adición de materias proteicas de origen vegetal en los tratamientos del vino y del mosto. En el año 2009 se limitó el uso de estas proteínas a las procedentes del trigo o del guisante (Reglamento (CE) nº 606/2009) y en el año 2013 apareció el Reglamento (CE) nº 1251/2013 según el cual además de las proteínas procedentes de trigo y guisante, también se permitió el uso de la proteína de patata.

1.4.1. Estudios de encolado con proteínas de origen vegetal

- Primeros estudios con proteínas de origen vegetal

En estos primeros ensayos Lefebvre *et al.* (1999, 2000, 2001) estudiaron diversas proteínas vegetales que los autores clasifican en cuatro grupos: cereales, leguminosas, oleaginosas y otras. Se estudiaron un total de 100 muestras de productos de materias proteicas vegetales y su comportamiento mediante la realización de ensayos en volúmenes de 50 a 500 mL de diferentes mostos, vinos blancos y vinos tintos. Estos ensayos se realizaron a temperatura ambiente durante 72 horas.

Finalmente, se seleccionaron ocho proteínas de origen vegetal tras demostrar ser eficaces como clarificantes y se compararon los resultados de estas proteínas con los obtenidos con una gelatina de referencia.

Los ensayos se realizaron utilizando la misma dosis de proteína vegetal y de gelatina, y se observó en todos los ensayos que los volúmenes de lías generados por las proteínas de origen vegetal fueron inferiores a los generados con la gelatina. Además, las características cromáticas del vino no se vieron modificadas durante estos ensayos.

Al comparar las proteínas de distintos orígenes, se observó que para los tres casos estudiados (mosto, vino tinto y vino blanco) siempre había alguna proteína vegetal que resultaba ser más eficaz que la gelatina de referencia.

Por otra parte, Panero *et al.* (2001) realizaron un estudio comparando siete proteínas de origen vegetal con tres tipos de gelatinas. Las dosis empleadas de clarificante fueron de 10, 20 y 40 g/hL y los ensayos se realizaron en cilindros graduados con un volumen de 200 mL. Se analizó el comportamiento de todos los clarificantes y también se llevó a cabo un estudio sobre la cinética de clarificación, con medidas de turbidez a las 2, 4, 6, 8, 24, 48 y 72 horas tras el encolado de los vinos.

Este estudio demostró que las proteínas vegetales tienen una capacidad de clarificación comparable a las gelatinas en cuanto a reducción de turbidez y además generan menores volúmenes de lías. Para algunas de las proteínas vegetales estudiadas, también se encontraron

reducciones significativas de la astringencia de los vinos clarificados cuando se utilizaron dosis más altas (de 20 a 40 g/hL).

Los resultados de estos estudios fueron muy alentadores para las proteínas de origen vegetal y propiciaron que se continuara con el estudio de estos agentes clarificantes.

- Avances en los estudios de clarificación con proteínas vegetales: búsqueda de nuevos clarificantes

A raíz de los primeros estudios con proteínas de origen vegetal comenzó el estudio de diversas proteínas de este tipo y su comportamiento como clarificantes de mostos y vinos.

El gluten de trigo fue una de las primeras proteínas de origen no animal que se identificó como buen clarificante. Marchal *et al.* (2000, 2002) estudiaron el comportamiento de cinco tipos diferentes de glútenes de trigo con diferentes grados de hidrólisis en mostos, vino blancos y vinos tintos. Para ello se realizaron ensayos a una temperatura de $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ y se emplearon dosis de 5 a 40 g/hL.

Estos resultados se compararon con los obtenidos por dos gelatinas, dos colas de pescado, albúmina de huevo y caseína y en este caso se comprobó que el volumen generado de lías era similar para todos los clarificantes. En cuanto a la reducción de la turbidez, los glútenes de trigo obtuvieron mejores resultados que la mayoría de las proteínas de origen animal, siendo solamente superado por la albúmina de huevo en los ensayos realizados con dosis más elevadas.

La búsqueda de materias proteicas de origen vegetal con un buen comportamiento como clarificantes continuó con el estudio de Durán (2004). En este estudio se realizaron ensayos de clarificación con vino tinto joven de la variedad Tempranillo utilizando extractos de levadura, glútenes de trigo y de maíz con distintos grados de hidrólisis y proteína de algas, y se compararon con gelatina. Los ensayos se llevaron a cabo a una temperatura de $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ y en presencia y ausencia de bentonita como coadyuvante.

En cuanto a las proteínas vegetales, se observó que los niveles de reducción de turbidez eran similares a los obtenidos con la gelatina y que siempre se generaban lías más compactas y de menor volumen (este parámetro mejoraba en ausencia de bentonita). Estos resultados fueron confirmados posteriormente por Noriega *et al.* (2010), Durán (2010) e Iturmendi *et al.* (2010).

El análisis sensorial probó que no hay diferencias significativas entre los vinos tratados con proteínas vegetales y los tratados con gelatina, excepto para la proteína de alga donde se encontraron sabores y olores extraños.

Mira *et al.* (2006) ensayaron nuevas proteínas vegetales en cuanto a su eficiencia en la clarificación y su influencia química y sensorial en las características del vino. Para ello, se realizó un estudio con proteínas de arroz, altramuz, trigo, soja y guisante, las cuales las comparó con tres gelatinas de referencia. Se estudiaron dos dosis para cada proteína (dosis alta y dosis baja), y se probaron en vino tinto y vino blanco. Los ensayos duraron 72 horas, excepto para el caso del vino tinto con la dosis alta de clarificante, que se dejó siete días.

En general, desde un punto de vista físico-químico y sensorial las proteínas vegetales presentaron una eficacia similar a las gelatinas, exceptuando las proteínas de guisante que no mostraron buena habilidad para la clarificación del vino tinto. En el caso del vino blanco se

determinó que es necesario el uso de un coadyuvante y/o aumentar el tiempo del ensayo para lograr una buena clarificación.

Más recientemente, Granato *et al.* (2013) han llevado a cabo un estudio de clarificación de vinos blancos con clarificantes de origen vegetales. Las proteínas estudiadas fueron las de guisante, lenteja, soja y el gluten de trigo. Los resultados muestran que todas ellas son capaces de producir una disminución rápida y notable de la turbidez y la estabilidad proteica del vino no se vio afectada. La proteína de lenteja tuvo el mayor impacto sobre los componentes del aroma, causando una marcada disminución de éstos. Por otra parte, el gluten de trigo resultó ser el clarificante más equilibrado en cuanto a su eficacia para reducir la turbidez como su efecto sobre el aroma. Además, el contenido de gluten encontrado en el vino clarificado se mantuvo muy por debajo del umbral sugerido para los alimentos libres de gluten.

- Avances en los estudios de clarificación con proteínas vegetales: influencia del medio

Según Ribéreau-Gayon *et al.* (2002), los principales factores que afectan a la eficiencia del proceso de clarificación son la naturaleza, dosis y método de preparación de los agentes clarificantes, y el pH, temperatura, tipo y año del vino a tratar. Por este motivo, una vez identificadas las proteínas de origen vegetal con buena aptitud para la clarificación, también se debe estudiar cómo afectan estos parámetros durante este proceso.

El estudio de Iturmendi (2005) realizó ensayos de clarificación con proteínas vegetales en los cuales no solo se centró en la comparación de éstas con clarificantes de origen animal, sino que también se tuvieron en cuenta la influencia de factores como el pH y la temperatura a la que se encontraba el vino o en la concentración de las proteínas empleadas.

Las proteínas estudiadas fueron una gelatina, tres concentrados proteicos obtenidos a partir de levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, un gluten de trigo vital, un gluten de trigo devital y un gluten hidrolizado de maíz. Con las siete proteínas se realizaron ensayos en siete vinos tintos jóvenes de la variedad Tempranillo y a una temperatura de $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$. Se fijó la dosis de clarificante en 12 g/hL y se realizaron ensayos en presencia de bentonita como coadyuvante (gelatina y extractos de levadura) y en su ausencia (gelatina y glútenes).

En cuanto a la influencia de los factores del medio, se pudo comprobar que tanto el pH, la temperatura, como la concentración del clarificante influyen en los parámetros tecnológicos de la clarificación, en el punto isoeléctrico y en la densidad de carga superficial. Por una parte, el punto isoeléctrico resultó jugar un papel más importante en los ensayos de clarificación llevados a cabo con bentonita, mientras que la densidad de carga lo hizo en los ensayos en ausencia de coadyuvante.

La variación de la densidad de carga superficial en función de la temperatura y del pH también fue estudiada por Iturmendi *et al.* (2005), donde se corroboró que estos dos factores sí influyen en este parámetro.

Otros trabajos han continuado estudiando de qué manera afectan las condiciones del medio al proceso de clarificación. En el campo de las proteínas vegetales, encontramos los trabajos de Armendáriz (2006) y Arellano (2008), que estudian la influencia de la temperatura y del pH, respectivamente. En ambos casos se estudiaron diferentes tipos de glútenes de trigo y maíz, y se

llegó a la conclusión de que estos dos factores influyen tanto en los parámetros tecnológicos de la clarificación como en las características del vino clarificado.

1.4.2. Estudios de encolado con proteína de patata

La sustancia de origen vegetal más reciente en ser permitida como agente clarificante es la proteína de patata. La proteína empleada en la clarificación es la patatina, que pertenece a una familia de glicoproteínas que representa más del 40% de la proteína soluble total en la patata y posee un peso molecular entre 39-45 kDa (Gambuti *et al.*, 2012). Es una proteína comúnmente utilizada en la industria alimentaria debido a sus propiedades emulsionantes y a su bajo riesgo alergénico (Castells *et al.*, 1986).

Su uso en enología presenta las ventajas de no requerir un etiquetado como posible alérgeno potencial (convirtiéndose en un posible sustituto de la caseína) y que puede ser comercializado para el público vegetariano y vegano (siendo una buena alternativa a la gelatina) (Iturmendi *et al.*, 2013c). Dadas estas ventajas es necesario realizar estudios para averiguar cómo se comporta en la clarificación de mostos y vinos.

El comportamiento de esta proteína fue ensayado por Gambuti *et al.* (2012). En este caso la albúmina de huevo, el caseinato de potasio, la patatina y una gelatina fueron los clarificantes empleados en un ensayo con vino tinto de la variedad Aglianico, rico en polifenoles. Se fijaron tres dosis para todos los clarificantes de 10, 20 y 30 g/hL y se evaluaron la astringencia (mediante el método SPI, que mide el contenido de polifenoles del vino reactivos frente a proteínas salivales que pueden causar astringencia), la composición fenólica y el color del vino clarificado.

Los resultados de este estudio mostraron que la proteína de patata es una buena alternativa a los clarificantes de origen animal, ya que no modificó la intensidad colorante del vino ni su contenido total en antocianinas a ninguna de las dosis estudiadas. Por otra parte, también se observó que es capaz de producir una disminución significativa de la astringencia del vino en niveles similares que la gelatina y por encima de la albúmina de huevo y el caseinato de potasio. Este resultado concuerda con el obtenido en el estudio de Tschiersch *et al.* (2010), donde la proteína de patata demostró ser más eficiente que las proteínas de arroz, trigo y maíz en cuanto a la reducción de las sustancias con mayor impacto en la astringencia y amargor del vino.

Desde el año 2009 la casa comercial Laffort ha estudiado la patatina y su utilización como clarificante en enología, y tras ser legalizado su uso en 2013 lanzó al mercado su producto a base de proteína de patata llamado Vegecoll. Desde entonces varios estudios han sido llevados a cabo en diferentes mostos y vinos para estudiar este producto (Iturmendi *et al.*, 2013a, 2013b, 2013c).

Estos estudios han demostrado que el empleo de Vegecoll a una dosis baja es tan eficaz como otros clarificantes de origen animal. En cuanto a la flotación de mostos, los resultados determinan que Vegecoll resulta ser un buen sustituto de la gelatina, ya que no solo reduce la turbidez a unos valores similares, sino que también es capaz de eliminar compuestos fenólicos oxidados y los susceptibles a la oxidación relacionados con aromas negativos. En la clarificación de tintos, este producto puede utilizarse para clarificar vinos en los que se haya utilizado la técnica de la termovinificación, pues se demostró que no produce una pérdida de la estructura del vino. Con su empleo, también se observa una reducción de la astringencia y una buena estabilización de la materia colorante.

Dado que este es un producto nuevo del que todavía no se tiene suficiente información es necesario seguir estudiando su comportamiento y conocer de qué manera influyen los diversos factores del medio cuando se emplea como clarificante.

Uno de ellos es la temperatura, de la que se desconoce su efecto ya que los ensayos realizados hasta el momento se han llevado a cabo sin variaciones de este factor. Por este motivo, el objetivo de este trabajo es conocer cómo influye la temperatura en las características del vino y en los parámetros tecnológicos de la clarificación utilizando la proteína de patata como agente clarificante.

1.5. OBJETIVO

El objetivo del presente Trabajo Fin de Grado es estudiar de qué manera afecta la temperatura en el proceso de clarificación de un vino tinto joven *cv.* Tempranillo empleando un clarificante a base de proteínas vegetales extraídas de patata.

Se estudiará el efecto de la temperatura sobre:

- Las características del vino clarificado: Índice de Polifenoles Totales (IPT), antocianos totales, taninos totales, índice de etanol, índice de gelatina, intensidad colorante y tonalidad.
- Los parámetros tecnológicos de la clarificación: reducción de turbidez y volumen de lías generado.
- La cinética de clarificación: capacidad de floculación, capacidad de clarificación, velocidad de floculación y velocidad de sedimentación.

Para realizar un estudio más completo se utilizarán tres dosis de clarificante de proteína de patata y los resultados que se obtengan se compararán con los de dos gelatinas de referencia, uno de los clarificantes más empleados actualmente.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

El estudio se llevó a cabo utilizando un diseño factorial completo de dos factores (temperatura y dosis) a tres niveles cada uno. Las temperaturas seleccionadas fueron 12, 16 y 20 °C, mientras que las dosis (baja, media y alta), se establecieron en función de las recomendaciones técnicas del suministrador del producto.

El efecto de estos factores se estudió mediante ensayos de clarificación en los cuales se utilizaron como agentes clarificantes la proteína de patata y dos gelatinas de referencia. De este modo también se pudo comparar las diferencias entre clarificantes de origen vegetal y de origen animal.

Para los ensayos de clarificación con las gelatinas se seleccionaron dos productos muy diferentes entre ellos, se fijó la dosis más adecuada para el vino utilizado en los ensayos y se realizaron dos repeticiones por ensayo.

En cuanto a los ensayos de la cinética del encolado, éstos se realizaron exclusivamente con la proteína de patata y con una repetición cada uno.

Para llevar a cabo este diseño experimental fue necesario realizar los siguientes ensayos:

- Nº ensayos de clarificación:

$$[(1 \text{ proteína patata} * 3 \text{ dosis}) + (2 \text{ gelatinas} * 1 \text{ dosis})] * 3 \text{ temperaturas} * 2 \text{ repeticiones} = 30$$

- Nº ensayos cinética del encolado:

$$1 \text{ proteína patata} * 3 \text{ dosis} * 3 \text{ temperaturas} * 1 \text{ repetición} = 9$$

Los ensayos comentados anteriormente se fueron escalonando por semanas en función de las tres temperaturas estudiadas. De esta forma, en una semana se llevaban a cabo todos los ensayos de clarificación correspondientes a una misma temperatura.

El diseño experimental se muestra en el cuadro 2.1., donde:

- VEG: Vegecoll, clarificante a base de proteína de patata.
- VAT: Vinigel AT, gelatina.
- VGR: Vinigel GR, gelatina.

Cuadro 2.1. Diseño experimental.

Clarificante	Dosis (g/hl)	Temperatura (°C)	Repetición
VEG	1	12	1
VEG	1	12	2
VEG	3	12	1
VEG	3	12	2
VEG	5	12	1
VEG	5	12	2
VAT	6	12	1
VAT	6	12	2
VGR	6	12	1
VGR	6	12	2

Clarificante	Dosis (g/hl)	Temperatura (°C)	Repetición
VEG	1	16	1
VEG	1	16	2
VEG	3	16	1
VEG	3	16	2
VEG	5	16	1
VEG	5	16	2
VAT	6	16	1
VAT	6	16	2
VGR	6	16	1
VGR	6	16	2

Clarificante	Dosis (g/hl)	Temperatura (°C)	Repetición
VEG	1	20	1
VEG	1	20	2
VEG	3	20	1
VEG	3	20	2
VEG	5	20	1
VEG	5	20	2
VAT	6	20	1
VAT	6	20	2
VGR	6	20	1
VGR	6	20	2

2.2. PLAN DE TRABAJO

2.2.1. Caracterización del vino

En primer lugar se caracterizó el vino de partida. Los parámetros que se midieron fueron los siguientes: densidad, grado alcohólico, acidez total, acidez volátil, contenido de los ácidos málico, láctico, tartárico y glucónico, pH, contenido de azúcares reductores, contenido de glucosa y fructosa, contenido de glicerol, índice de Folin, sulfuroso libre, sulfuroso total, Índice de Polifenoles Totales (IPT), cantidad de antocianos y de taninos totales, índice de etanol, índice de gelatina, intensidad colorante y tonalidad.

2.2.2. Elección dosis clarificantes

Para un mejor estudio del comportamiento de la proteína de patata se fijaron tres dosis de acuerdo a las recomendaciones descritas en la ficha técnica del producto (Anexo 1).

En cuanto a las dos gelatinas de referencia, se fijó una dosis para cada una de ellas en función de un ensayo previo realizado en el vino de partida. En este ensayo se analizaron los siguientes parámetros: IPT, cantidad de antocianos totales, cantidad de taninos totales, índice de etanol, intensidad colorante, tonalidad, reducción de la turbidez y volumen de lías generado.

2.2.3. Ensayos de clarificación

Los ensayos de clarificación se llevaron a cabo siguiendo el diseño experimental descrito en el cuadro 2.1.

2.2.4. Análisis de los ensayos de clarificación

Una vez realizada la clarificación, a las 24 horas se procedía a evaluar las siguientes características del vino clarificado: IPT, cantidad de antocianos totales, cantidad de taninos totales, índice de etanol, índice de gelatina, intensidad colorante, tonalidad, reducción de la turbidez y volumen de lías generado.

2.2.5. Análisis estadístico de los resultados y discusión

Los resultados obtenidos en los análisis anteriores se analizaron y fueron discutidos. También se realizó un estudio estadístico de estos resultados.

2.3. MATERIAL

2.3.1. Vino

El vino empleado durante el estudio es un vino tinto joven monovarietal cv. Tempranillo. Este vino fue elaborado en una bodega navarra siguiendo el método de elaboración típico de vino tinto joven y fue trasladado a la universidad tras finalizar la fermentación maloláctica.

Una vez allí, fue almacenado en cuatro depósitos de 25 litros cada uno y en una cámara frigorífica de la casa comercial Tarre a 12 °C. Durante el estudio se analizaron en una ocasión los niveles de sulfuroso y la acidez volátil para controlar los posibles problemas de picado.

2.3.2. Clarificantes

Se han empleado un clarificante a base de proteína de patata (origen vegetal) y dos gelatinas de referencia (origen animal).

2.3.2.1. Proteína de patata

El producto empleado es el Vegecoll, un extracto de proteínas proveniente de patata y especialmente seleccionado por sus cualidades de clarificación. Su alta concentración en proteínas nativas y su potencial Zeta muy elevado hacen que sea una proteína altamente reactiva en enología (Anexo 1, Ficha técnica del producto).

Este clarificante puede utilizarse tanto en mosto como en vino y para el caso de los vinos tintos la dosis de empleo varía entre 1 y 5 g/hL.

2.3.2.2. Gelatinas

Las gelatinas que se utilizaron como referencia fueron Vinigel AT y Vinigel GR.

La primera de ellas es una gelatina atomizada de origen porcino, que se comercializa en forma de polvo y que se aplica en vinos tintos, blancos y rosados. Esta gelatina es soluble en frío.

Por otra parte, Vinigel GR es una gelatina granulada y soluble en caliente. También es de origen porcino, se comercializa en polvo y se puede emplear en vinos tintos, blancos y rosados.

Las dosis recomendadas para ambas gelatinas varían de 6 a 15 g/hL (Anexos 2 y 3).

2.4. MÉTODOS

2.4.1. Caracterización del vino

La caracterización del vino se llevó a cabo antes de comenzar con los ensayos de clarificación. Algunos parámetros fueron analizados con el equipo WineScan Auto de Foss, un equipo que se basa en la medición de distintos parámetros del vino mediante el infrarrojo cercano.

Con este equipo se midieron los siguientes parámetros: densidad, grado alcohólico, acidez total, acidez volátil, contenido de los ácidos málico, láctico, tartárico y glucónico, pH, contenido de azúcares reductores, contenido de glucosa y fructosa, contenido de glicerol e índice de Folin.

Los dos análisis restantes, la determinación de dióxido de azufre libre y combinado, se realizaron con el equipo de valoración automático “Titromatic 1S 3B: para SO₂ en vinos”. El funcionamiento de este equipo se basa en el método de Ripper, en el cual la muestra de vino se valora de forma automática con ácido sulfúrico al 33% y yodo.

2.4.2. Análisis de los compuestos fenólicos

Los siguientes parámetros relacionados con la composición fenólica del vino se determinaron siguiendo los métodos descritos por Zamora (2003) basados en determinaciones espectrofotométricas: cantidad de antocianos totales, cantidad de taninos totales, índice de etanol e índice de gelatina.

El IPT también se calculó siguiendo el método de Zamora (2003) pero modificando el factor de dilución, ya que en este caso para el vino tinto se escogió un factor de 50 en vez de 100.

2.4.3. Análisis del color

Los parámetros medidos en este caso fueron la intensidad colorante y la tonalidad del vino, y ambos se determinaron de acuerdo a lo descrito por Glories (1984).

2.4.4. Ensayos de clarificación

Para cada uno de los ensayos de clarificación que se han descrito en el diseño experimental se empleó el siguiente procedimiento:

- 1.- Preparación de los clarificantes
- 2.- Preparación muestras (atemperar vino y clarificantes, 1 hora)
- 3.- Agitación del vino (30 segundos)
- 4.- Adición clarificante
- 5.- Agitación del vino (1 minuto)
- 6.- Reposo (24 horas)
- 7.- Análisis del vino clarificado
- 8.- Embotellado
- 9.- Almacenado (5 °C)

Dentro de este procedimiento es necesario concretar en los siguientes pasos:

2.4.4.1. Elección de la dosis de clarificante

Previamente a realizar los ensayos de clarificación fijados en el diseño experimental se seleccionaron las dosis a emplear para los tres clarificantes de estudio.

Con respecto al clarificante de proteína de patata (Vegecoll), se fijaron tres dosis de adición basándose en la ficha técnica del producto. El proveedor aconseja utilizar en vinos tintos una dosis de 1-3 g/hL si el objetivo del encolado es el de estabilizar la materia colorante, o de 2-5 g/hL si lo que se busca es afinar la astringencia, reducir el amargor o las notas vegetales del vino. Para obtener una mayor información sobre el comportamiento de este producto como clarificante se decidió que se utilizarían las dosis de 1, 3 y 5 g/hL, que abarcan todo el rango aconsejado.

En cuanto a las dos gelatinas empleadas (Vinigel AT y Vinigel GR), se determinó que en los ensayos de clarificación solo se utilizaría una dosis (la dosis más adecuada para el vino utilizado

en las condiciones más adecuadas de uso de la gelatina). Para fijar esta dosis fue necesario realizar un ensayo previo con cada una de las gelatinas estudiadas.

Los ensayos se realizaron por duplicado en conos Imhoff de un litro de volumen y la temperatura a la que se llevaron a cabo fue de 16 °C, puesto que en el estudio de Iturmendi (2009) se determinó que esta era la temperatura óptima de trabajo de estas gelatinas.

Antes de realizar estos ensayos se seleccionaron para cada gelatina tres dosis de acuerdo con sus fichas técnicas. El intervalo de dosis aconsejada para las dos gelatinas en vino tinto es de 6 - 15 g/hL y para el ensayo previo de clarificación se eligieron las dosis de 6, 10 y 14 g/hL. Una vez fijadas las dosis se realizaron los ensayos de clarificación siguiendo los pasos descritos en el apartado anterior.

Para elegir la dosis más adecuada en cada caso se tuvo en cuenta de qué manera afectaban las gelatinas en los parámetros tecnológicos de la clarificación y en el color y los compuestos fenólicos del vino clarificado.

Con respecto a los parámetros de la clarificación, se buscó que el clarificante redujera la turbidez lo máximo posible y que las lías generadas fueran de poco volumen. Por otra parte, en relación a las características del vino se consideró que la dosis óptima de clarificante es la que no influye en exceso en el color y en los compuestos fenólicos que posee el vino. Para conocer qué tipo de taninos se eliminan en la clarificación se realizó el análisis del índice de etanol, que da el porcentaje de taninos que al estar combinados con polisacáridos no intervienen en la astringencia del vino. Estos taninos también dan estructura y cuerpo al vino y por lo tanto se buscará una dosis de clarificante que no reduzca en gran medida este parámetro.

Para la correcta elección de la dosis de empleo de las gelatinas se analizaron estadísticamente los datos obtenidos en estos ensayos.

2.4.4.2. Preparación del clarificante

La preparación de cada clarificante se realizó de la forma que describe la ficha técnica del producto proporcionada por el proveedor. Los tres productos empleados en este estudio se comercializan en forma de polvo, por lo que era necesario diluirlos en agua destilada antes de adicionarlos al vino.

Para la preparación de las gelatinas había que diluir el producto en proporción 1/10 y dejar hidratando durante un mínimo de dos horas. La gelatina Vinigel AT se diluye en agua fría, mientras que para que los polvos de Vinigel GR se homogeneizaran de forma correcta era necesario calentar el agua previamente. En el caso de la proteína de patata también era necesario preparar el producto en 10 veces su peso en agua antes de su incorporación pero no hacía falta esperar antes de adicionarlo al vino.

Una vez realizada la dilución los clarificantes se almacenaban durante una hora a la temperatura a la que se fuera a llevar a cabo la clarificación. Esta mezcla se utilizaba en el día y no se reutilizaba.

2.4.4.3. *Preparación muestras*

Los ensayos de clarificación se llevaron a cabo en conos Imhoff de un litro de capacidad. Antes de comenzar los ensayos se llenaban los conos con un litro de vino y se colocaban en la cámara a la temperatura a la que se fuera a realizar la clarificación, para que en el momento en el que se adicionaba la cola y comenzaba el ensayo el vino ya se encontrara a la temperatura adecuada.

Pasada una hora se realizaba una medida de la turbidez de cada uno de los conos, para conocer la turbidez en el momento inicial. Posteriormente y antes de adicionar el clarificante, se removía el vino con la ayuda de una varilla de vidrio durante 30 segundos, y tras adicionar la cola se volvía a remover durante un minuto. A partir de este momento se dejaba reposar el vino durante 24 horas en la cámara de control de temperatura.

Una vez transcurrido el tiempo, se pasaba a medir la turbidez y el volumen de lías generado y comenzaban los análisis relacionados con los compuestos fenólicos y el color del vino clarificado.

2.4.5. **Parámetros tecnológicos de la clarificación**

2.4.5.1. *Reducción de la turbidez*

La reducción de la turbidez se calculó teniendo en cuenta la turbidez en el momento anterior al comienzo de los ensayos y la turbidez del vino clarificado a las 48 horas. Las muestras cogidas para medir este parámetro se cogieron siempre de la misma altura del cono.

El cálculo de este parámetro viene dado por la expresión:

$$\text{Reducción turbidez (\%)} = [(\text{Turbidez}_{\text{inicial}} - \text{Turbidez}_{\text{final}}) / \text{Turbidez}_{\text{inicial}}] * 100$$

La turbidez del vino se midió durante todo el estudio con la ayuda del Turbidímetro Hach 2100N.

2.4.5.2. *Volumen de lías*

El volumen de lías generado en cada ensayo se midió por lectura directa del cono Imhoff, que está graduado y permite cuantificar la cantidad de lías directamente. Esta medida se expresa en tanto por ciento y se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Volumen de lías (\%)} = (\text{Volumen lías} * 100) / \text{Volumen vino}$$

2.4.6. **Cinética de la clarificación**

La cinética de clarificación se estudió para el caso de la proteína de patata a las tres dosis y temperaturas estudiadas. El procedimiento de este ensayo consistió en medir la turbidez del vino a lo largo de la clarificación en los tiempos 0, 2, 5, 7, 10, 15, 20 y 30 minutos y 1, 2, 6, 24 y 48 horas. Estos datos se representaron gráficamente.

Además, con estos datos se calcularon los siguientes parámetros:

- Capacidad de floculación (NTU) = turbidez máxima alcanzada (NTU) – turbidez inicial (NTU)
- Capacidad de clarificación (NTU) = turbidez del testigo (NTU) – turbidez vino clarificado
- Velocidad de floculación = d (turbidez) / dt antes de alcanzar la turbidez máxima
- Velocidad de sedimentación = d (turbidez) / dt después de alcanzar la turbidez máxima

2.4.7. Repetitividad análisis

Para comprobar la fiabilidad de los análisis realizados del color y los compuestos fenólicos se realizaron ensayos de repetitividad para todos ellos. Estos ensayos consistieron en realizar cinco repeticiones para cada uno de éstos y analizar la desviación típica y la desviación estándar relativa obtenidas. Además sirvieron también para caracterizar el vino de partida.

Los resultados de este ensayo se recogen en el cuadro 2.2.:

Cuadro 2.2. Repetitividad análisis compuestos fenólicos y color.

Análisis	Media \pm desviación típica	Desviación estándar relativa [%]
IPT	65,04 \pm 0,10	0,16
Antocianos totales [mg/L]	572,6 \pm 2,9	0,5
Taninos totales [g/L]	2,55 \pm 0,04	1,41
Índice de etanol [%]	79,74 \pm 0,29	0,37
Índice de gelatina [%]	55,5 \pm 1,5	2,7
Intensidad colorante	10,19 \pm 0,02	0,21
Tonalidad	76,84 \pm 0,13	0,17

La buena repetitividad de los análisis quedó demostrada con los bajos datos obtenidos de la desviación estándar relativa, siendo todos ellos inferiores al 3%. Los análisis que obtuvieron la desviación estándar relativa más elevada fueron el de taninos totales y el índice de gelatina, mientras que el resto quedaron por debajo del 1%.

2.4.8. Análisis estadístico

Todos los resultados obtenidos en este estudio fueron analizados estadísticamente utilizando el programa informático Statgraphics Plus 5.1.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. CARACTERIZACIÓN DEL VINO

Como ya se ha comentado, el vino fue almacenado en cuatro depósitos de 25 litros, y con el objeto de conocer cuál era su estado inicial se tomó una muestra de cada una de ellas y se analizaron los siguientes parámetros:

Cuadro 3.1. Caracterización del vino.

Parámetro	Depósito 1	Depósito 2	Depósito 3	Depósito 4	Media \pm desviación típica
Densidad	0,9951	0,9948	0,9947	0,9948	$0,9948 \pm 0,0002$
Etanol [v/v]	13,57	13,58	13,67	13,59	$13,60 \pm 0,05$
Acidez total [g/L]	5,1	5,1	5,1	5,1	$5,1 \pm 0,0$
Acidez volátil [g/L]	0,46	0,47	0,46	0,46	$0,46 \pm 0,01$
Ácido málico [g/L]	n.d.*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ácido láctico [g/L]	1,80	1,90	1,80	1,90	$1,85 \pm 0,05$
Ácido tartárico [g/L]	2,20	2,10	2,10	2,00	$2,10 \pm 0,08$
Ácido glucónico [g/L]	0,90	0,80	0,90	0,70	$0,83 \pm 0,10$
pH	3,76	3,77	3,76	3,77	$3,77 \pm 0,01$
Azúcares reductores [g/L]	2,20	2,20	2,10	2,20	$2,18 \pm 0,05$
Glucosa + Fructosa [g/L]	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Glicerol [g/L]	9,60	9,50	9,60	9,60	$9,58 \pm 0,05$
Índice Folin C	68,6	67,5	68,8	68,3	$68,3 \pm 0,6$
Sulfuroso libre [mg/L]	46,0	50,0	45,0	50,0	$47,8 \pm 2,6$
Sulfuroso total [mg/L]	85,0	85,0	81,0	86,0	$84,3 \pm 2,2$

*n.d. = no detectado

Todos los parámetros analizados se encuentran dentro de la normalidad para un vino tinto joven. No se detectaron restos de glucosa y fructosa ni de ácido málico, lo que supone que la fermentación alcohólica y la maloláctica estaban finalizadas en el momento del análisis.

Los niveles de dióxido de azufre son algo elevados debido a que se midieron al día siguiente de una adición de sulfuroso que se realizó para evitar el picado del vino durante su almacenamiento.

Por otra parte, también fueron analizados los compuestos fenólicos y el color de este vino. Los resultados se muestran en el cuadro 3.2.:

Cuadro 3.2. Compuestos fenólicos y color del vino sin tratar.

Análisis	Media \pm desviación típica
IPT	65,04 \pm 0,10
Antocianos totales [mg/L]	572,6 \pm 2,9
Taninos totales [g/L]	2,55 \pm 0,04
Índice de etanol [%]	79,74 \pm 0,29
Índice de gelatina [%]	55,5 \pm 1,5
Intensidad colorante	10,19 \pm 0,02
Tonalidad	76,84 \pm 0,13

En un vino tinto los valores habituales del Índice de Polifenoles Totales oscilan entre 20 y 80, los de antocianos entre 200 y 1200 mg/L y los de taninos oscilan entre 1 g/hL hasta 5 g/hL (Zamora, 2003). Observando el cuadro anterior se comprueba que estos parámetros se encuentran dentro de su rango habitual.

Por otro lado, el índice de etanol da el porcentaje de taninos que aportan cuerpo y estructura al vino y que no participan en la astringencia del vino. El índice de etanol en este caso es elevado, lo que da a entender que el vino tiene un considerable cuerpo y estructura y no es muy astringente.

Otro parámetro relacionado con la astringencia es el índice de gelatina, que da el porcentaje de taninos astringentes. Para este vino se determinó un valor del 55,5%, que se encuentra dentro del rango del 40 al 60% que es lo considerado como más conveniente.

En cuanto a los parámetros relacionados con el color también se obtuvieron resultados correctos para un vino tinto joven.

3.2. ELECCIÓN DE LAS DOSIS DE LAS GELATINAS

Para fijar la dosis de las dos gelatinas empleadas en los ensayos de clarificación (Vinigel AT y Vinigel GR), se realizaron ensayos previos con cada una de ellas. Estos ensayos se realizaron por duplicado y se utilizaron para cada gelatina las dosis de 6, 10 y 14 g/hL, que como ya se ha comentado anteriormente abarcan todo el intervalo aconsejado por las fichas técnicas. La temperatura de los ensayos fue de 16 °C (la temperatura óptima de trabajo de las gelatinas) y se estudió el efecto de las dosis sobre los compuestos fenólicos y el color del vino, y sobre los parámetros tecnológicos de la clarificación.

3.2.1. Efecto de las dosis de las gelatinas en los compuestos fenólicos

El primer análisis realizado fue el Índice de Polifenoles Totales, un parámetro que da una idea de la concentración global de los compuestos fenólicos en el vino pero que no especifica la concentración de cada uno de ellos. Con la clarificación se buscará no alterar demasiado este índice.

A continuación se representa el efecto de las tres dosis utilizadas de cada gelatina en el IPT del vino tras los ensayos:

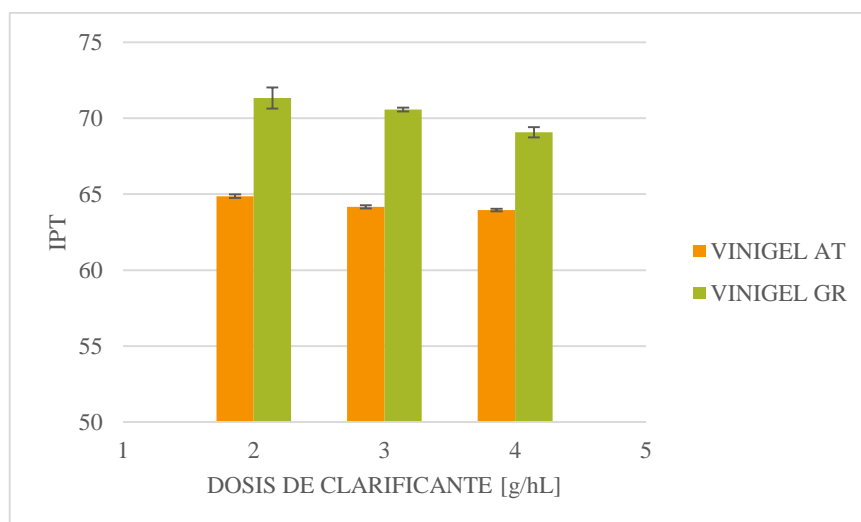


Figura 3.1. Valores del IPT en función de las dosis de Vinigel AT y Vinigel GR.

En la figura 3.1. se observa cómo el IPT disminuyó en mayor medida cuanto mayor fue la dosis de clarificante empleada con las dos gelatinas.

En primer lugar, con la gelatina Vinigel AT se produjo una mayor disminución de este parámetro con las tres dosis y se encontraron diferencias significativas entre los valores obtenidos con la dosis de 6 g/hL y las otras dos restantes.

Por otro lado, tras realizar este ensayo con la gelatina Vinigel GR se determinó que el IPT se había modificado en menor medida que en el caso anterior y no hubo diferencias significativas entre las dosis.

Para obtener más información sobre el efecto de la clarificación en los polifenoles se procedió a analizar la cantidad de antocianos totales en el vino clarificado. Estos compuestos son los responsables del color rojo, y por tanto se considerará que la dosis óptima de gelatina es aquella que menos haga disminuir este parámetro. Sin embargo, como se muestra en la figura 3.2., la cantidad de antocianos totales se vio disminuida en todos los ensayos de clarificación.

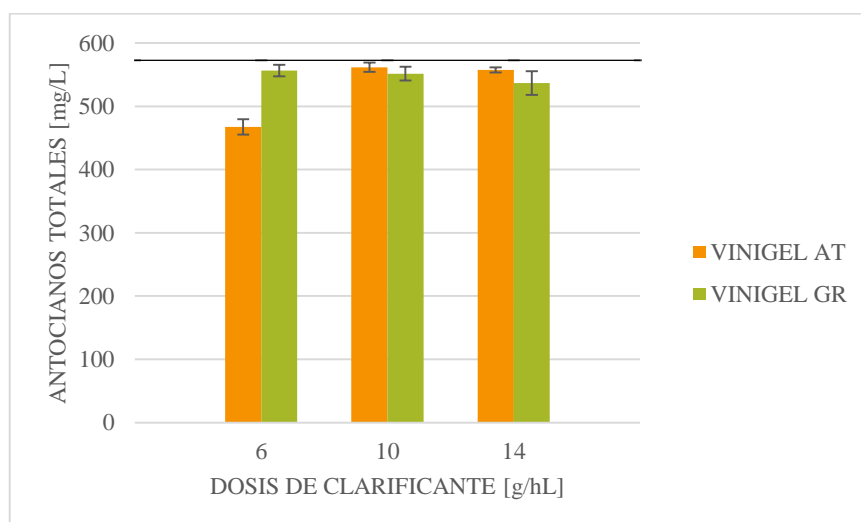


Figura 3.2. Cantidad de antocianos totales en función de las dosis de Vinigel AT y Vinigel GR.

**La línea continua representa el valor inicial de antocianos totales.*

En el caso de Vinigel AT, la dosis de 6 g/hL fue la mayor efecto tuvo, disminuyendo los antocianos casi en un 20% con respecto al valor inicial. Al realizar el estudio estadístico se comprobó que sí existían diferencias significativas entre los resultados obtenidos con la dosis de 6 g/hL y las otras dos. Por otra parte, las dosis de 10 y 14 g/hL mostraron mejor aptitud para la clarificación en relación con su efecto sobre los antocianos totales, ya que no modificaron en gran medida este parámetro.

Con la gelatina Vinigel GR se observó una disminución de estos compuestos que fue mayor conforme se aumentó la dosis de gelatina. Ya se ha comentado que con la clarificación se pretende alterar lo menos posible este tipo de polifenoles, por lo tanto las dosis más adecuadas en este caso serían las de 6 y 10 g/hL.

El siguiente parámetro estudiado fue la cantidad de taninos totales. Como ya se ha comentado, el vino utilizado no tiene una carga tánica demasiado alta y por lo tanto se buscará una dosis de gelatina que no afecte en gran medida la concentración de estos compuestos. Los resultados de los ensayos con las dos gelatinas se representan en la figura 3.3.:

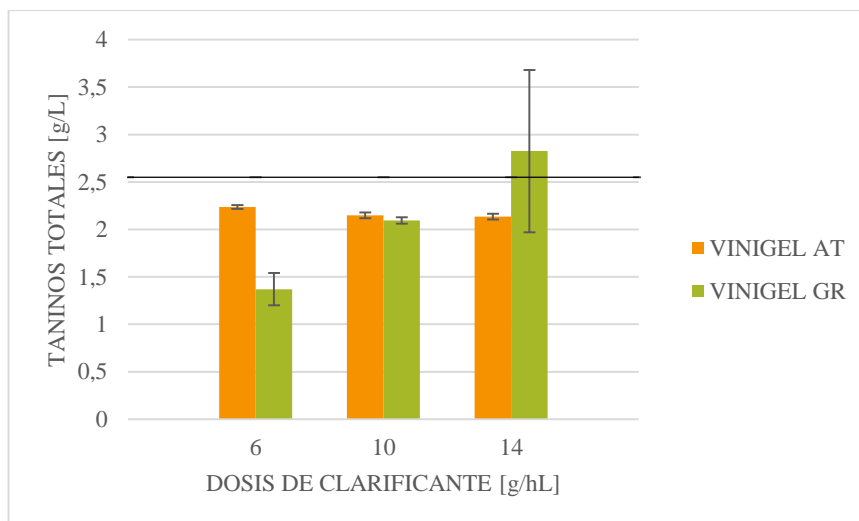


Figura 3.3. Cantidad de taninos totales en función de las dosis de Vinigel AT y Vinigel GR.

**La línea continua representa el valor inicial de taninos totales.*

El valor de los taninos totales en el vino disminuyó en todos los ensayos realizados con la gelatina Vinigel AT. Con estos resultados se determinó que con dosis más altas de este clarificante la cantidad de taninos eliminada también era mayor, pero en este caso no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos con las diferentes dosis de esta gelatina.

En cuanto a los ensayos realizados con Vinigel GR, las dosis de 6 y 10 g/hL provocaron una disminución de la cantidad de taninos, mientras que la dosis más alta empleada no alteró este parámetro.

En relación a los taninos del vino, el siguiente parámetro en analizar fue el índice de etanol (Figura 3.4.). Interesa que el valor de este índice sea elevado, lo que conlleva un mayor cuerpo y estructura.

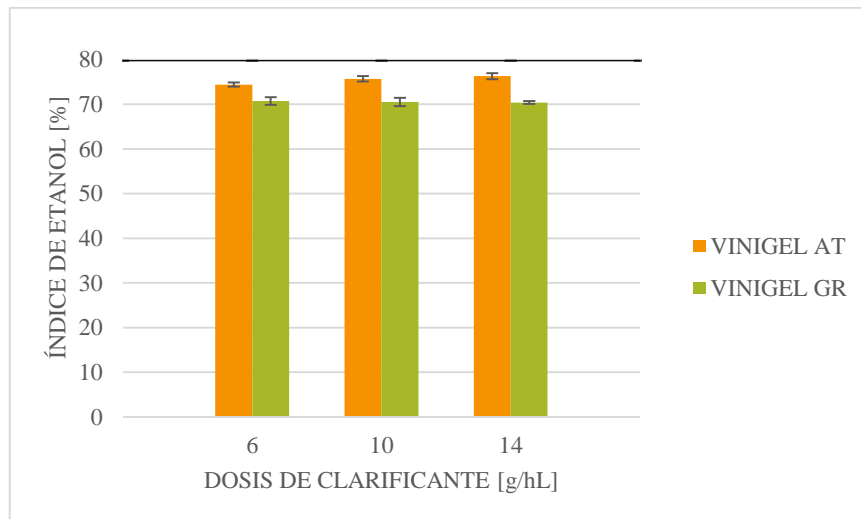


Figura 3.4. Valores del índice de etanol en función de las dosis de Vinigel AT y Vinigel GR.

**La línea continua representa el valor inicial del índice de etanol.*

Como se observa en la figura 3.4., la gelatina Vinigel AT provocó que el valor del índice de etanol disminuyera ligeramente con respecto a la medida del vino sin clarificar en los tres ensayos. En este caso no se aprecian grandes diferencias entre los resultados obtenidos con cada dosis, pero sí se comprobó que el valor del índice disminuía en mayor cantidad cuando se emplearon dosis más bajas de clarificante. Por otra parte, las tres dosis de la gelatina Vinigel GR provocaron que este parámetro disminuyera en torno a un 9% en todos los casos. Al igual que en el caso de la gelatina anterior no se observaron diferencias importantes con la variación de las dosis.

3.2.2. Efecto de la dosis de las gelatinas en el color

En lo relativo al color del vino, se estudiaron la intensidad colorante y la tonalidad. Los resultados del primero de estos análisis se presentan en la figura 3.5.:

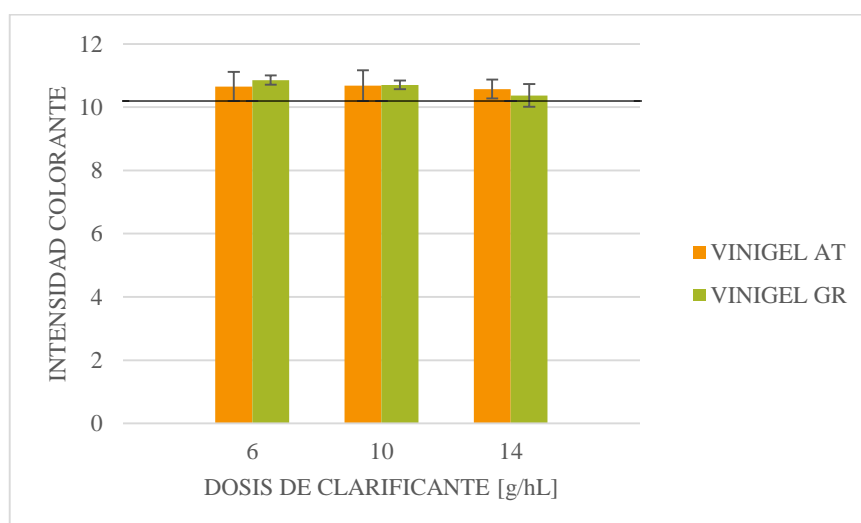


Figura 3.5. Intensidad colorante en función de las dosis de Vinigel AT y Vinigel GR.

**La línea continua representa el valor inicial de intensidad colorante.*

Los valores de intensidad colorante obtenidos con las diferentes dosis de las dos gelatinas presentan valores muy similares. Esos valores también son muy similares al valor inicial, por lo que se deduce que la clarificación realizada con estas dosis de clarificantes no modifica este parámetro en el vino.

Por otra parte, los resultados obtenidos sobre la tonalidad en los vinos clarificados se muestran en la figura 3.6.:

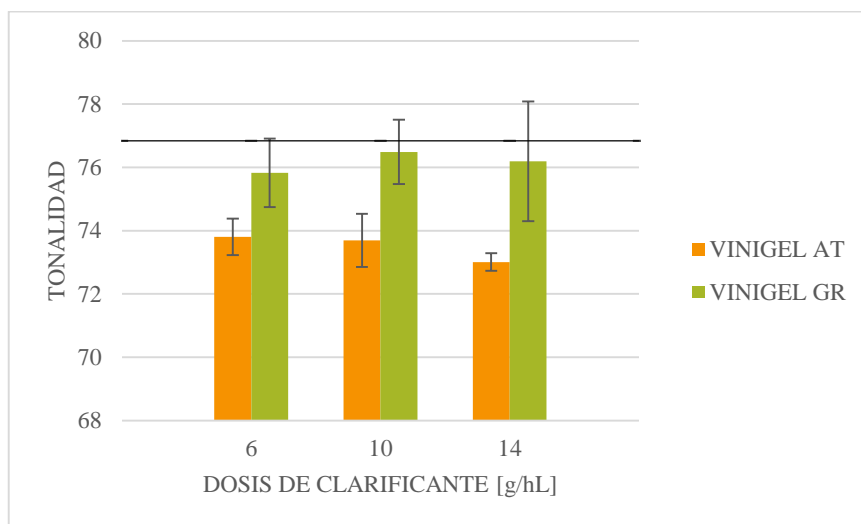


Figura 3.6. Tonalidad en función de las dosis de Vinigel AT y Vinigel GR.

**La línea continua representa el valor inicial de tonalidad.*

Todos los ensayos de clarificación con las gelatinas provocaron una disminución de este parámetro en el vino. En el caso de Vinigel AT, la mayor disminución se dio con la dosis de 14 g/hL, mientras que las otras dos dosis restantes tuvieron un efecto muy parecido en la tonalidad.

La gelatina Vinigel GR disminuyó este parámetro en menor medida que la gelatina anterior y fue la dosis intermedia de 10 g/hL la que menos alteró su valor con respecto al valor inicial.

3.2.3. Efecto de la dosis de las gelatinas en los parámetros tecnológicos de la clarificación

Por último, se comparó el efecto de las dosis estudiadas sobre los parámetros tecnológicos de la clarificación. El primer parámetro evaluado fue la limpidez del vino final expresado en porcentaje de reducción de turbidez:

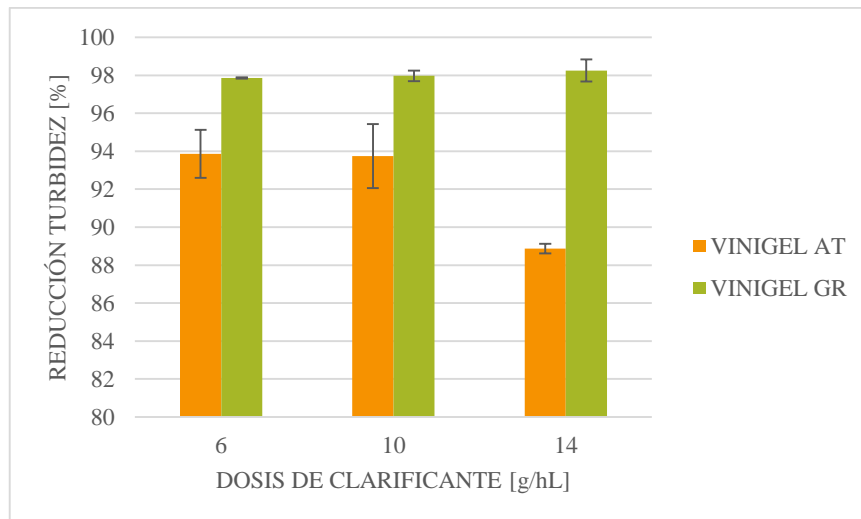


Figura 3.7. Reducción de la turbidez en función de las dosis de Vinigel AT y Vinigel GR.

En la figura 3.7. se observa que para la gelatina Vinigel AT los mayores niveles de reducción de turbidez se alcanzaron con las dosis de 6 y 10 g/hL, con datos alrededor del 94%. Por lo tanto, estas dos dosis mostraron una mejor aptitud para la clarificación que la dosis de 14 g/hL, la cual no consiguió llegar al 90% de reducción de turbidez.

Por otro lado, los resultados de la gelatina Vinigel GR muestran que consiguió reducir el nivel de turbidez en mayor medida, ya que este valor se mantuvo cerca del 98% para las tres dosis empleadas. La dosis que mejores resultados obtuvo en este caso fue la de 14 g/hL.

El último parámetro estudiado para la elección de las dosis de gelatina fue el volumen de lías generado (Figura 3.8.).

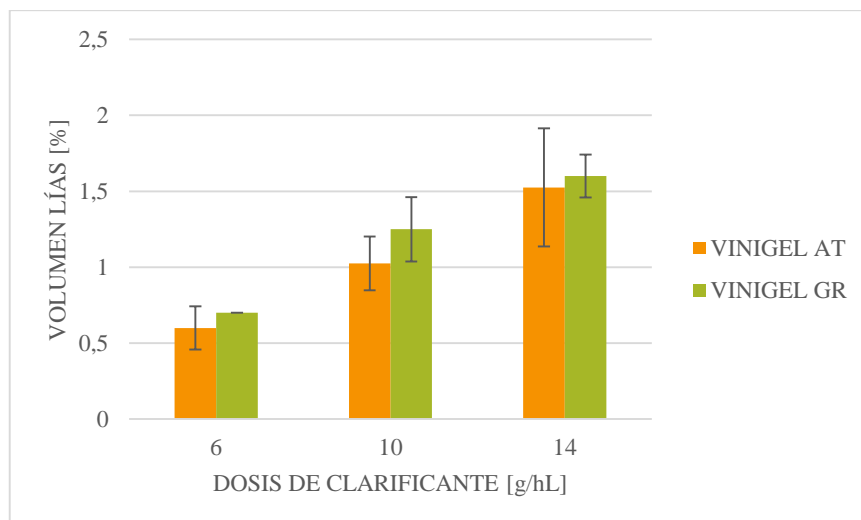


Figura 3.8. Volumen de lías en función de las dosis de Vinigel AT y Vinigel GR.

Los resultados muestran que aumentando la dosis de gelatina Vinigel AT en 4 g/hL el volumen de lías generado también aumenta aproximadamente un 0,5%. En la práctica de la clarificación se busca generar el menor volumen de lías posible, por lo que la dosis de 6 g/hL sería la más adecuada en este caso.

Con la gelatina Vinigel GR se comprobó que el volumen de lías también aumenta proporcionalmente a la dosis de gelatina utilizada, por lo que la dosis de gelatina más baja (6 g/hL) sería la más adecuada. Este es el único parámetro en el cual se encontraron diferencias significativas entre los resultados obtenidos en función de la dosis de esta gelatina, ya que el análisis estadístico identificó estas diferencias entre la cantidad de lías generada por las dosis de 6 y 14 g/hL.

3.2.4. Elección de las dosis de las gelatinas

Finalmente la dosis elegida para la gelatina Vinigel AT fue la de 6 g/hL. Los principales motivos fueron sus buenos resultados obtenidos en cuanto a la reducción de turbidez y el volumen de lías generado. Además, esta dosis fue la que menos redujo el IPT y, junto con la de 10 g/hL, fue la que menos alteró el color del vino tras la clarificación.

Con respecto a la composición fenólica, la dosis de 6 g/hL fue la que más redujo la cantidad de antocianos, pero como ya se ha observado esto no afectó negativamente al color del vino. Esta dosis también causó una menor disminución de taninos del vino con respecto a las otras dos dosis, lo que la convierte en la dosis más adecuada en relación a este parámetro. Por otra parte, las tres dosis estudiadas afectaron al índice de etanol de manera similar y por lo tanto este parámetro no fue decisivo para la selección de la dosis.

En cuanto al ensayo realizado con la gelatina Vinigel GR, se determinó que las dosis de 6 y 10 g/hL fueron las que mejor cumplieron los requisitos buscados en este ensayo pero finalmente fue la dosis más baja la elegida para esta gelatina.

Se fijó la dosis de gelatina Vinigel GR en 6 g/hL debido a que presentó un buen rendimiento en cuanto a los parámetros tecnológicos de la clarificación, consiguiendo un alto nivel de limpidez a la vez que generaba un volumen de lías considerablemente menor que el producido por las otras dos dosis. También fue la dosis que mejor conservó el color del vino, ya que la intensidad colorante y la cantidad de antocianos se vieron poco alteradas por la acción de la gelatina a esta dosis.

3.3. ESTUDIO COMPARATIVO DE LA INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA Y LA DOSIS SOBRE LA COMPOSICIÓN DEL VINO CLARIFICADO Y LOS PARÁMETROS TECNOLÓGICOS DE LA CLARIFICACIÓN

En este apartado se presentan el análisis estadístico aplicado a los resultados de los ensayos de clarificación con la proteína de patata y la comparación entre los resultados obtenidos para cada parámetro con los clarificantes de origen vegetal y animal en función los factores temperatura y dosis.

Los dos factores se estudiaron a tres niveles cada uno: la temperatura a 12, 16 y 20 °C y la dosis de proteína de patata a 1, 3 y 5 g/hL.

En el análisis estadístico se buscaron diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% en función de estos dos factores y de su interacción, y en los casos en los que se encontró que la interacción de la temperatura y la dosis era significativa se fijó el factor temperatura y se estudió de qué manera afectó a cada dosis en los distintos parámetros.

A continuación se muestra el cuadro 3.3., que contiene el resumen de los resultados del análisis estadístico. Estos resultados son comentados en los apartados 3.3.1., 3.3.2., y 3.3.3.

Cuadro 3.3. Significación estadística (valores p) para los factores temperatura, dosis y su interacción.

VARIABLE DEPENDIENTE	FACTOR		
	Temperatura	Dosis	Interacción
IPT	0,0000	0,0002	0,0268
Antocianos totales	0,0010	0,0079	0,1011
Taninos totales	0,0006	0,0000	0,0128
Índice de etanol	0,0000	0,0988	0,0034
Índice de gelatina	0,0000	0,0129	0,0192
Intensidad colorante	0,0000	0,0025	0,0153
Tonalidad	0,0000	0,0152	0,0018
Reducción de turbidez	0,0025	0,0001	0,0796
Volumen de lías	0,5389	0,0000	0,9460

Nivel de confianza del 95%.

Valores de $p > 0,05$ indican que no existen diferencias significativas.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas según la temperatura en los siguientes parámetros: IPT, cantidad total de antocianos, cantidad total de taninos, índice de etanol, índice de gelatina, intensidad colorante, tonalidad y reducción de la turbidez.

La lista de parámetros en los que se encontraron diferencias significativas según la dosis incluye los nombrados anteriormente para la temperatura, exceptuando el índice de etanol y añadiendo el volumen de las lías.

Por otro lado, la interacción de estos dos factores causó diferencias significativas en los parámetros IPT, cantidad total de taninos, índice de etanol, índice de gelatina, intensidad colorante y tonalidad.

3.3.1. Efecto de los factores estudiados sobre los compuestos fenólicos

En este apartado se recogen los resultados de este análisis para los parámetros IPT, cantidad de antocianos totales, cantidad de taninos totales, índice de etanol e índice de gelatina.

3.3.1.1. Índice de Polifenoles Totales

Como ya se ha comentado, la interacción entre la temperatura y la dosis afectó significativamente al IPT y por lo tanto se pasó a estudiar el efecto que tuvo la dosis de proteína según la temperatura a la que se realizó cada ensayo de clarificación. De esta manera se obtuvieron los resultados recogidos en el cuadro 3.4.:

Cuadro 3.4. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) del IPT según la dosis para cada temperatura.

Temperatura [°C]	Valor p	Grupos homogéneos según dosis
12	0,0363	1 ^a
		3 ^{a,b}
		5 ^b
16	0,0149	1 ^c
		3 ^c
		5 ^d
20	0,0559	1 ^e
		3 ^f
		5 ^{e,f}

Nivel de confianza del 95%.

Valores de $p > 0,05$ indican que no existen diferencias significativas.

Letras iguales indican que no existen diferencias significativas (Prueba de Tukey)

Con estos resultados se observó que no todas las temperaturas tuvieron el mismo efecto sobre el IPT. En los ensayos llevados a cabo a 12 y 16 °C se encontraron diferencias significativas entre los resultados obtenidos con cada dosis.

En la temperatura más baja se determinó que existían diferencias significativas entre los valores del IPT obtenidos con las dosis de 1 y 5 g/hL, mientras que con la dosis de 3 g/hL se consiguieron valores intermedios. Por otra parte, en los ensayos realizados a 16 °C se diferenciaron dos grupos homogéneos, uno formado por la dosis de 5 g/hL y otro con las otras dos dosis restantes.

En la última temperatura, la de 20 °C, no se llegaron a encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los resultados para el nivel de confianza del 95%, pero el valor p (0,0559) quedó muy próximo a 0,05. Por este motivo sí se identificaron dos grupos homogéneos, uno formado por las dosis de 1 y 5 g/hL y otro formado por las dosis de 3 y 5 g/hL.

A continuación se muestra la figura 3.9., donde se representa la influencia de la temperatura y de la dosis de clarificante sobre el IPT en los ensayos realizados con la proteína de patata y las dos gelatinas de referencia:

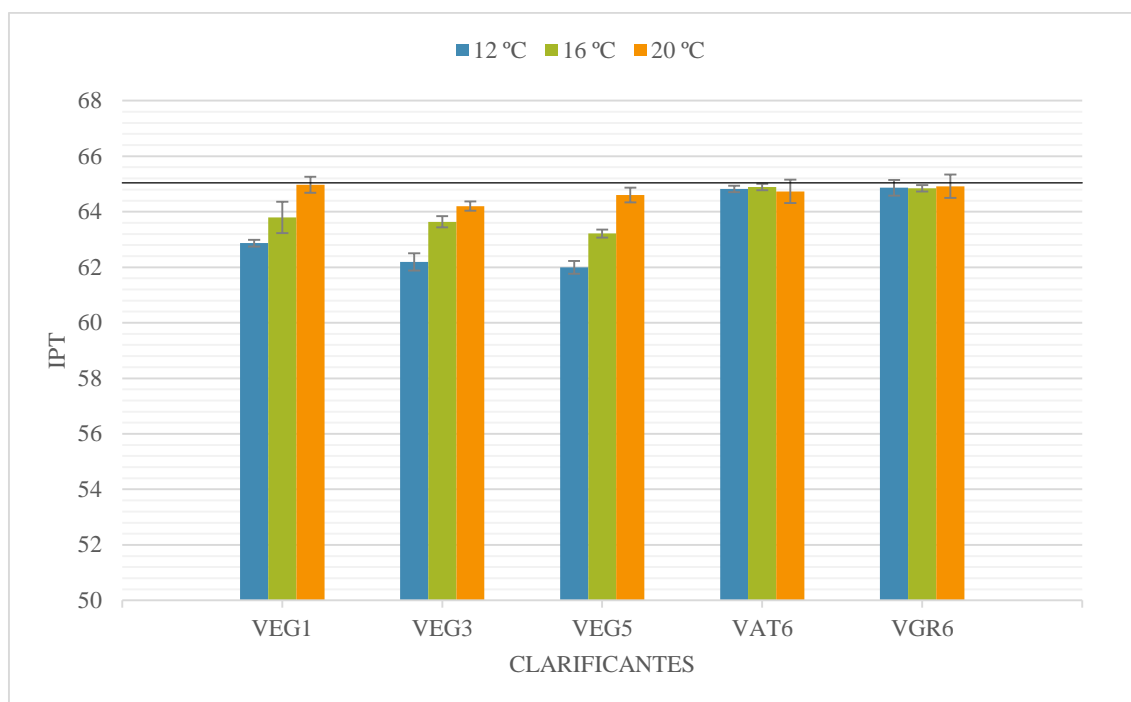


Figura 3.9. Valores del IPT en función de la temperatura y de la dosis de proteína.

VEG1: Proteína de patata a 1 g/hL; VEG3: Proteína de patata a 3 g/hL; VEG5: Proteína de patata a 5 g/hL; VAT6: Gelatina Vinigel AT a 6 g/hL; VGR6: Gelatina Vinigel GR a 6 g/hL.

**La línea continua representa el valor inicial del IPT.*

Como se puede apreciar en la figura 3.9., todos los ensayos de clarificación llevados a cabo produjeron, en mayor o menor medida, una disminución del contenido de polifenoles totales del vino.

Con estos resultados también se puede observar cómo para el caso del IPT, el clarificante a base de proteína de patata se mostró más sensible a las variaciones de temperatura, produciendo una mayor reducción de este parámetro cuanto menor fue la temperatura del ensayo. Por otro lado, las dos gelatinas de referencia disminuyeron el IPT en niveles muy similares a las tres temperaturas estudiadas.

En cuanto al efecto de la dosis de proteína de patata, para las temperaturas de 12 y 16 °C un aumento de la dosis significó una mayor reducción del IPT. Sin embargo, en el caso de los ensayos de clarificación realizados a 20 °C la dosis intermedia (3 g/hL) resultó ser la que más disminuía este valor.

De estos resultados se deduce que las clarificaciones a temperaturas más elevadas y con dosis de proteína bajas son las recomendadas para el caso de la proteína de patata, ya que se consigue conservar mejor los polifenoles del vino.

3.3.1.2. Cantidad de antocianos totales

El análisis estadístico de los resultados continuó con los valores de antocianos totales. En este caso la interacción de los factores no resultó ser significativa y por lo tanto se estudiaron los dos factores por separado:

Cuadro 3.5. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) de los antocianos totales según la temperatura y la dosis.

Factor	Valor p	Grupos homogéneos
Temperatura	0,0010	12 ^a
		16 ^b
		20 ^a
Dosis	0,0079	1 ^c
		3 ^{c,d}
		5 ^d

Nivel de confianza del 95%.

Valores de $p > 0,05$ indican que no existen diferencias significativas.

Letras iguales indican que no existen diferencias significativas (Prueba de Tukey)

En el cuadro 3.5. se observa que tanto la temperatura como la dosis causaron diferencias significativas entre los resultados medidos de la cantidad de antocianos totales.

En función de la temperatura se identificaron dos grupos homogéneos, en los cuales se evidencia que los resultados obtenidos en los ensayos llevados a cabo a 12 y 20 °C fueron más similares entre sí que los resultados observados en los ensayos a 16 °C.

Dependiendo de la dosis de proteína se volvieron a diferenciar dos grupos homogéneos, debido a que se encontraron diferencias significativas entre los valores de antocianos totales obtenidos con las dosis de 1 y de 5 g/hL.

En la figura 3.10. se representan los resultados de la cantidad de antocianos totales en función de los clarificantes ensayados y la temperatura:

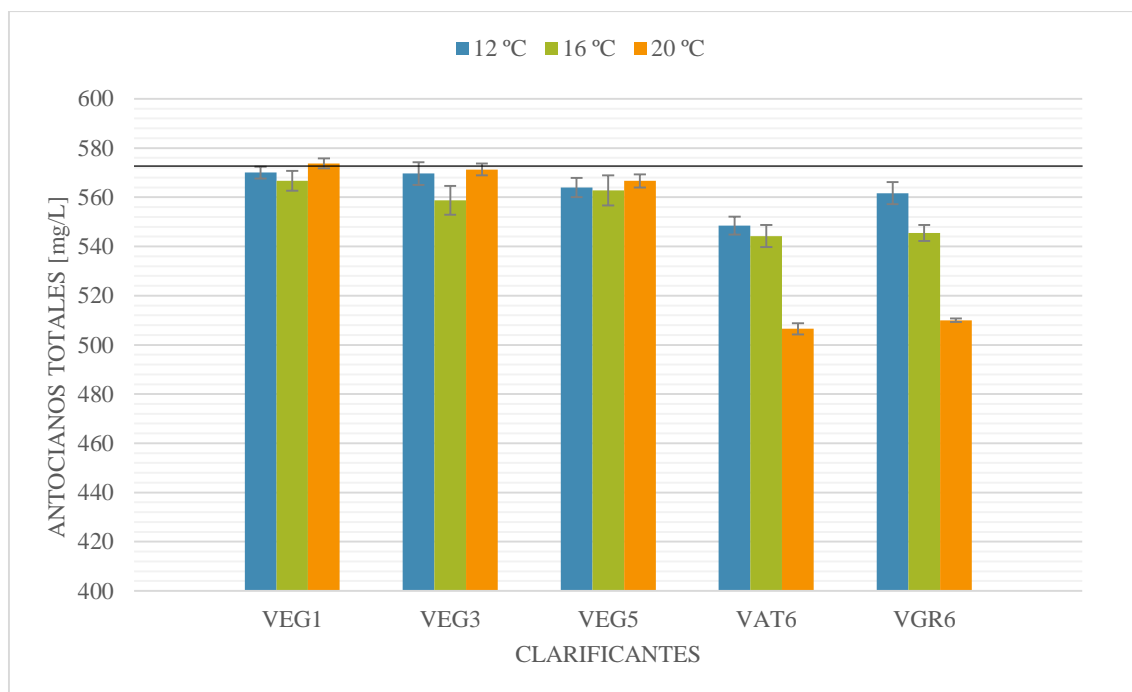


Figura 3.10. Cantidad de antocianos totales en función de la temperatura y la dosis de proteína. VEG1: Proteína de patata a 1 g/hL; VEG3: Proteína de patata a 3 g/hL; VEG5: Proteína de patata a 5 g/hL; VAT6: Gelatina Vinigel AT a 6 g/hL; VGR6: Gelatina Vinigel GR a 6 g/hL.

*La línea continua representa la cantidad inicial de antocianos.

A primera vista se observa que los clarificantes de origen animal tuvieron un efecto mayor sobre los antocianos, ya que las dos gelatinas llegaron a reducir estos compuestos hasta valores próximos a los 500 mg/L con las temperaturas más elevadas. Mientras, el clarificante de origen vegetal prácticamente no hizo disminuir la cantidad total de antocianos.

En este caso los clarificantes que se mostraron más sensibles a los cambios de temperatura fueron las dos gelatinas. Ambas provocaron una mayor disminución de antocianos conforme la temperatura era más elevada.

Por el contrario, las diferencias entre temperaturas para la proteína de patata fueron muy pequeñas, siendo la temperatura de 16 °C la que causó una mayor reducción de antocianos en todos los casos. Esto significa que las temperaturas de 12 y 20 °C son más adecuadas para la clarificación con proteína de patata.

La variación de la dosis de proteína de patata tampoco originó grandes diferencias en la cantidad de antocianos totales del vino clarificado. La mayor reducción de antocianos se produjo con la dosis de 3 g/hL a 16 °C, mientras que para las dos temperaturas restantes fue la dosis de 5 g/hL la que más redujo estos compuestos.

3.3.1.3. Cantidad de taninos totales

El siguiente parámetro en estudiar fue la cantidad de taninos totales presentes en el vino una vez fue clarificado.

El efecto de la interacción de los factores causó diferencias significativas entre los valores de este parámetro y por lo tanto se fijó la temperatura de los ensayos y se estudió el comportamiento de cada dosis. Los resultados de este análisis estadístico se recogen en el cuadro 3.6., donde se observa que el efecto de las tres temperaturas estudiadas provocó diferencias significativas entre los valores de taninos totales dependiendo de la dosis.

Cuadro 3.6. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) de los taninos totales según la dosis para cada temperatura.

Temperatura [°C]	Valor p	Grupos homogéneos según dosis
12	0,0200	1 ^a
		3 ^{a,b}
		5 ^b
16	0,0133	1 ^c
		3 ^d
		5 ^{c,d}
20	0,0270	1 ^e
		3 ^{e,f}
		5 ^f

Nivel de confianza del 95%.

Valores de $p > 0,05$ indican que no existen diferencias significativas.

Letras iguales indican que no existen diferencias significativas (Prueba de Tukey)

Con los resultados de este análisis se observó que el comportamiento de la dosis de proteína fue muy similar en los ensayos realizados a 12 y 20 °C. En ambos casos las diferencias significativas se encontraron entre la dosis alta y la dosis baja, definiendo de este modo dos grupos homogéneos en los cuales la dosis de 3 g/hL obtuvo valores intermedios.

En cambio, en los ensayos llevados a cabo a 16 °C se identificaron dos grupos homogéneos, uno con las dosis de 1 y 5 g/hL y otro con las dosis de 3 y 5 g/hL.

Los resultados obtenidos respecto a la cantidad de taninos totales se representan en la figura 3.11.:

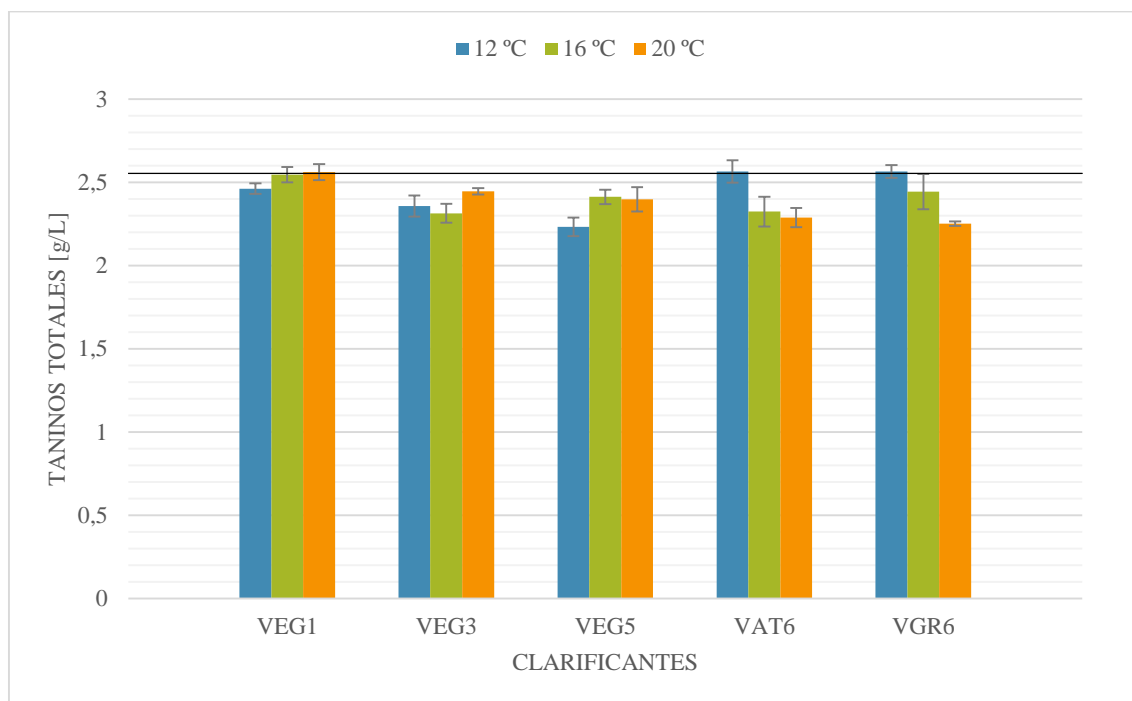


Figura 3.11. Cantidad de taninos totales en función de la temperatura y de la dosis de proteína.
 VEG1: Proteína de patata a 1 g/hL; VEG3: Proteína de patata a 3 g/hL; VEG5: Proteína de patata a 5 g/hL; VAT6: Gelatina Vinigel AT a 6 g/hL; VGR6: Gelatina Vinigel GR a 6 g/hL.
 *La línea continua representa la cantidad inicial de taninos totales.

En relación a la cantidad de taninos, el efecto de la temperatura según el origen de los clarificantes fue muy diverso. En primer lugar, con la proteína de patata se demostró que a temperaturas más bajas se produce una mayor reducción de los taninos.

Todo lo contrario ocurre en la clarificación con las gelatinas, puesto que en los ensayos llevados a cabo a la temperatura más baja la cantidad total de taninos en el vino no se vio alterada. Sin embargo, a temperaturas más elevadas sí se pudo apreciar una disminución de los taninos comparable a la que produce la proteína de patata a temperaturas inferiores.

La dosis de 1 g/hL de proteína de patata resultó ser la que menos disminuyó los taninos del vino, mientras que la dosis de 5 g/hL llegó a reducir los taninos hasta los 2,23 g/hL en el ensayo realizado a 12 °C. Por lo tanto, la combinación de temperaturas bajas con dosis altas de clarificante serán las recomendadas si uno de los objetivos de la clarificación es conseguir una importante disminución de los taninos.

3.3.1.4. Índice de etanol

A continuación se procedió a estudiar los resultados obtenidos del índice de etanol, y como la interacción de la dosis y la temperatura volvió a causar diferencias significativas fue necesario estudiar el efecto que tuvo cada temperatura sobre la dosis de proteína por separado. Este análisis se muestra en el cuadro 3.7.:

Cuadro 3.7. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) del índice de etanol según la dosis para cada temperatura.

Temperatura [°C]	Valor p	Grupos homogéneos según dosis
12	0,0255	1 ^a
		3 ^{a,b}
		5 ^b
16	0,0011	1 ^c
		3 ^d
		5 ^e
20	0,9557	1 ^f
		3 ^f
		5 ^f

Nivel de confianza del 95%.

Valores de $p > 0,05$ indican que no existen diferencias significativas.

Letras iguales indican que no existen diferencias significativas (Prueba de Tukey)

Tras realizar este estudio se encontraron diferencias significativas en los ensayos a 12 y 16 °C. En el primero de ellos se identificaron dos grupos homogéneos, uno constituido por las dosis de 1 y 3 g/hL y el otro formado por las dosis de 3 y 5 g/hL.

En cuanto a los ensayos a 16 °C, se observó cómo la variación en la dosis de proteína tuvo una mayor repercusión en los valores finales del índice de etanol, ya que en este caso se identificaron tres grupos homogéneos correspondientes a cada una de las dosis empleadas.

A 20 °C de temperatura los resultados obtenidos con cada dosis fueron más homogéneos y no se encontraron diferencias significativas entre ellos.

Los resultados de la influencia de los parámetros estudiados sobre el índice de etanol (figura 3.12.) demuestran que este parámetro disminuye en el vino clarificado cuando se utilizan tanto clarificantes de origen animal como de origen vegetal. Esto significa que tras la clarificación se reduce el porcentaje de taninos que al estar combinados con polisacáridos aportan cuerpo y estructura al vino.

El índice de etanol se vio menos alterado con las proteínas de origen animal a temperaturas bajas, donde este parámetro se vio reducido en tan solo un 1%. En los ensayos con las gelatinas se ve clara la influencia de la temperatura: cuanto mayor es la temperatura a la que se realiza la clarificación, el índice de etanol se reduce en mayor medida.

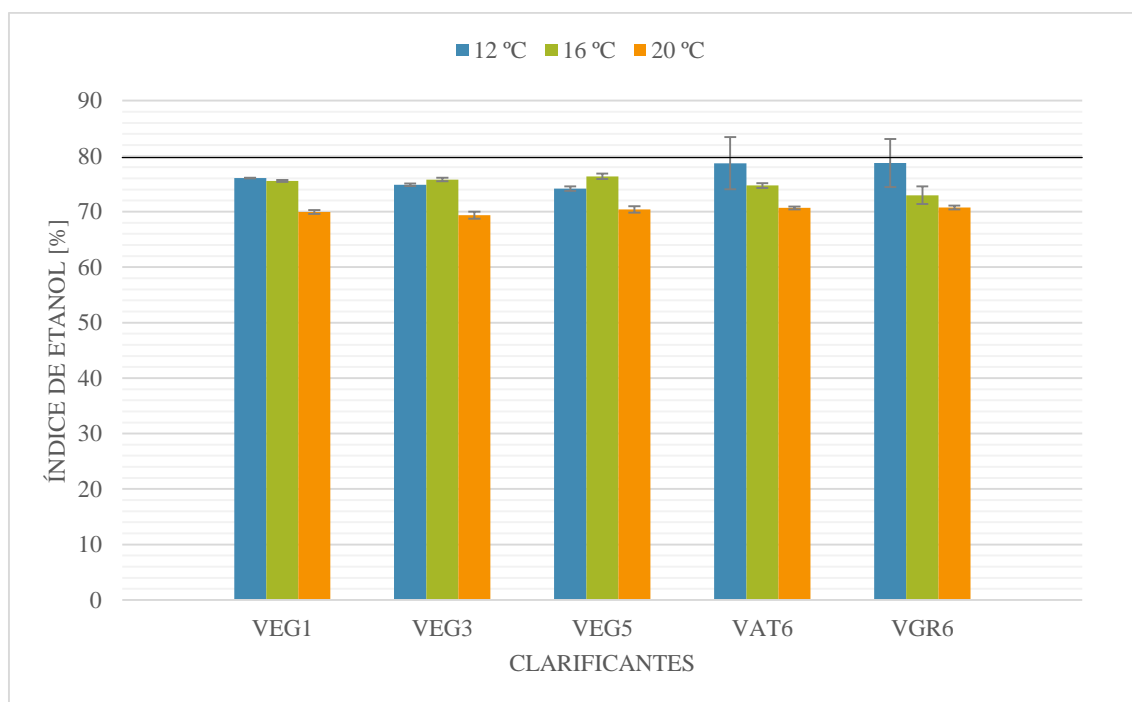


Figura 3.12. Índice de etanol en función de la temperatura y de la dosis de proteína.
 VEG1: Proteína de patata a 1 g/hL; VEG3: Proteína de patata a 3 g/hL; VEG5: Proteína de patata a 5 g/hL; VAT6: Gelatina Vinigel AT a 6 g/hL; VGR6: Gelatina Vinigel GR a 6 g/hL.
 *La línea continua representa el valor inicial del índice de etanol.

En el caso de la proteína de patata se puede observar en la figura 3.12. que por una parte, las temperaturas de 12 y 16 °C disminuyeron este índice en valores muy parecidos, mientras que con la temperatura de 20 °C se produjo siempre una disminución más pronunciada.

Precisamente en el apartado anterior se ha determinado que las temperaturas altas afectan en menor medida a la cantidad de taninos totales, y ahora con los resultados de este índice se puede deducir que aunque la temperatura de 20 °C reduzca menos la cantidad total de taninos, tiene un efecto importante en los taninos que están combinados con polisacáridos. Esto quiere decir que aunque a temperaturas más elevadas se eliminen menos taninos, el cuerpo y la estructura del vino se ven más afectados.

En cuanto a la dosis de proteína de patata, con el análisis estadístico se habían encontrado diferencias significativas en los ensayos a 12 y 16 °C pero en la práctica se observa que estas diferencias no son muy importantes.

3.3.1.5. Índice de gelatina

El último parámetro estudiado dentro de este apartado fue el índice de gelatina. Los resultados del análisis estadístico para este parámetro fueron los siguientes:

Cuadro 3.8. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) del índice de gelatina según la dosis y para cada temperatura.

Temperatura [°C]	Valor p	Grupos homogéneos según dosis
12	0,0725	1 ^a
		3 ^a
		5 ^a
16	0,0300	1 ^b
		3 ^c
		5 ^c
20	0,8320	1 ^d
		3 ^d
		5 ^d

Nivel de confianza del 95%.

Valores de $p > 0,05$ indican que no existen diferencias significativas.

Letras iguales indican que no existen diferencias significativas (Prueba de Tukey).

En el único caso en el que se encontraron diferencias significativas fue en los resultados obtenidos a 16 °C, donde se identificaron dos grupos homogéneos según la dosis. En uno de ellos se encuentra la dosis de 1 g/hL y el otro grupo que está formado por las dosis de 3 y 5 g/hL.

El efecto de la temperatura y la dosis de clarificante sobre el índice de gelatina se presentan en la figura 3.13.:

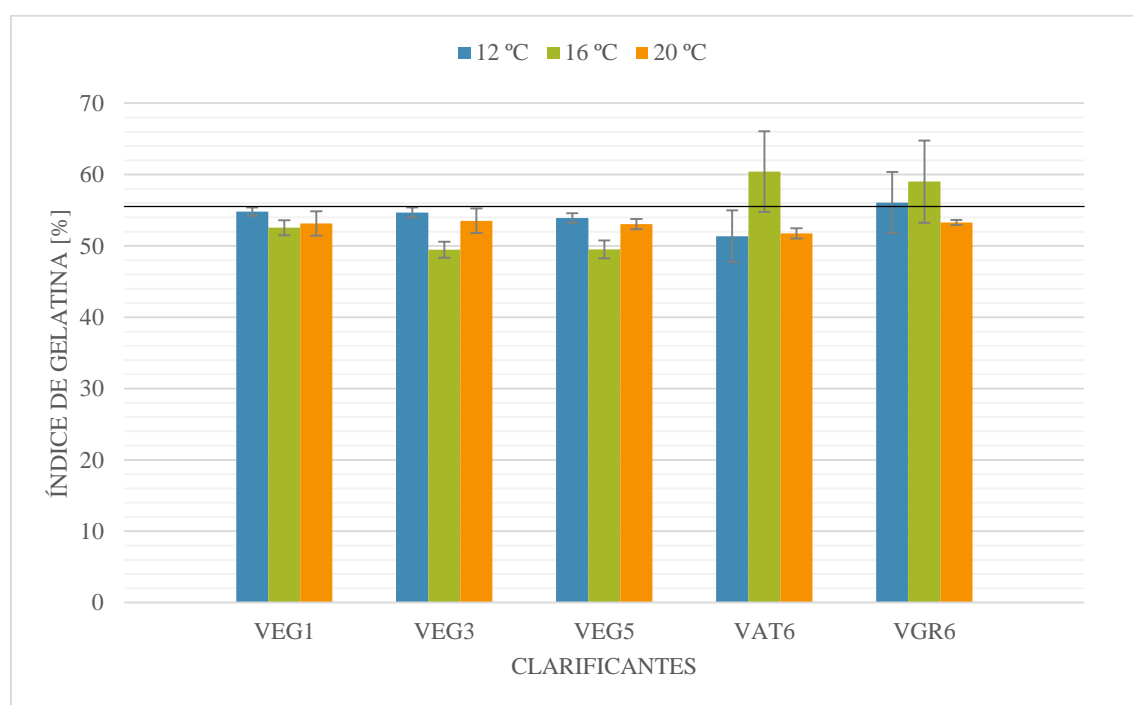


Figura 3.13. Índice de gelatina en función de la temperatura y la dosis de proteína.
 VEG1: Proteína de patata a 1 g/hL; VEG3: Proteína de patata a 3 g/hL; VEG5: Proteína de patata a 5 g/hL; VAT6: Gelatina Vinigel AT a 6 g/hL; VGR6: Gelatina Vinigel GR a 6 g/hL.

*La línea continua representa el valor inicial del índice de gelatina.

En este caso sí se ven diferencias entre los resultados obtenidos clarificando el vino con proteínas de origen animal o con proteínas de origen vegetal. Las gelatinas produjeron tanto aumentos como disminuciones de este parámetro, mientras que el clarificante vegetal siempre causó que disminuyera.

En cuanto a la proteína de patata, las clarificaciones a 16 °C provocaron una mayor disminución del índice de gelatina, lo que conlleva una mayor disminución de la astringencia. Las dos temperaturas restantes también originaron una reducción de este parámetro pero en menor cantidad.

En el caso de las dos gelatinas se observa cómo ambas se vieron influenciadas de manera similar por las dos temperaturas más elevadas. La temperatura de 16 °C causó un aumento del índice de gelatina con respecto al medido en el vino sin clarificar, produciendo un aumento alrededor del 5%. Por otra parte, la temperatura de 20 °C hizo que este índice disminuyera a niveles iguales a los de la proteína de patata.

Sin embargo, en las clarificaciones llevadas a cabo a 12 °C cada gelatina reaccionó de manera distinta. La gelatina soluble en frío (Vinigel AT) obtuvo los mayores niveles de reducción a esta temperatura, mientras que la gelatina soluble en caliente aumentó ligeramente el valor del índice de gelatina a 12 °C.

Estos resultados coinciden con el estudio de Gambuti *et al.* (2012), donde se determinó que la proteína de patata produce una disminución de la astringencia comparable o incluso superior a la de las gelatinas.

Por otra parte, las dosis de proteína de patata que mayor efecto tuvieron sobre la astringencia fueron las de 3 y 5 g/hL, con las que se obtuvieron valores del índice de gelatina inferiores al 50% en las clarificaciones a 16 °C.

Comparando estos resultados con los de la cantidad de taninos totales se deduce que aunque hay ocasiones en las que la temperatura de 12 °C consigue una mayor reducción de los taninos totales respecto a la temperatura de 16 °C, el índice de gelatina es siempre menor en las clarificaciones con 16 °C y por lo tanto es ésta la temperatura que más afecta a los taninos astringentes.

3.3.2. Efecto de los factores estudiados sobre el color

Dentro de este apartado se recogen los resultados de este análisis sobre los parámetros intensidad colorante y tonalidad.

3.3.2.1. Intensidad colorante

En el análisis estadístico de los resultados con respecto al primero de estos parámetros también se encontraron diferencias significativas en la interacción de los dos factores, y por este motivo se estudió el efecto de la dosis según la temperatura del ensayo. Los resultados de este análisis se presentan en el cuadro 3.9.:

Cuadro 3.9. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) de la intensidad colorante según la dosis y para cada temperatura.

Temperatura [°C]	Valor p	Grupos homogéneos según dosis
12	0,1955	1 ^a
		3 ^a
		5 ^a
16	0,0038	1 ^b
		3 ^b
		5 ^c
20	0,0511	1 ^d
		3 ^{d,e}
		5 ^e

Nivel de confianza del 95%.

Valores de $p > 0,05$ indican que no existen diferencias significativas.

Letras iguales indican que no existen diferencias significativas (Prueba de Tukey)

En este caso se encontraron diferencias significativas en los resultados de intensidad colorante correspondientes a los ensayos realizados a 16 °C. Debido a estas diferencias se identificaron dos grupos homogéneos en los cuales se muestra la diferencia de los resultados obtenidos con la dosis de 5 g/hL y los resultados de las dosis más bajas.

Además, aunque a un nivel de confianza del 95% no se consideren diferencias significativas, en los resultados de los ensayos a 20 °C también se diferenciaron dos grupos homogéneos. Uno de ellos formado por las dosis de 1 y 3 g/hL y el otro por las dosis de 3 y 5 g/hL.

La representación de los resultados para la intensidad colorante se recogen en la figura 3.14.:

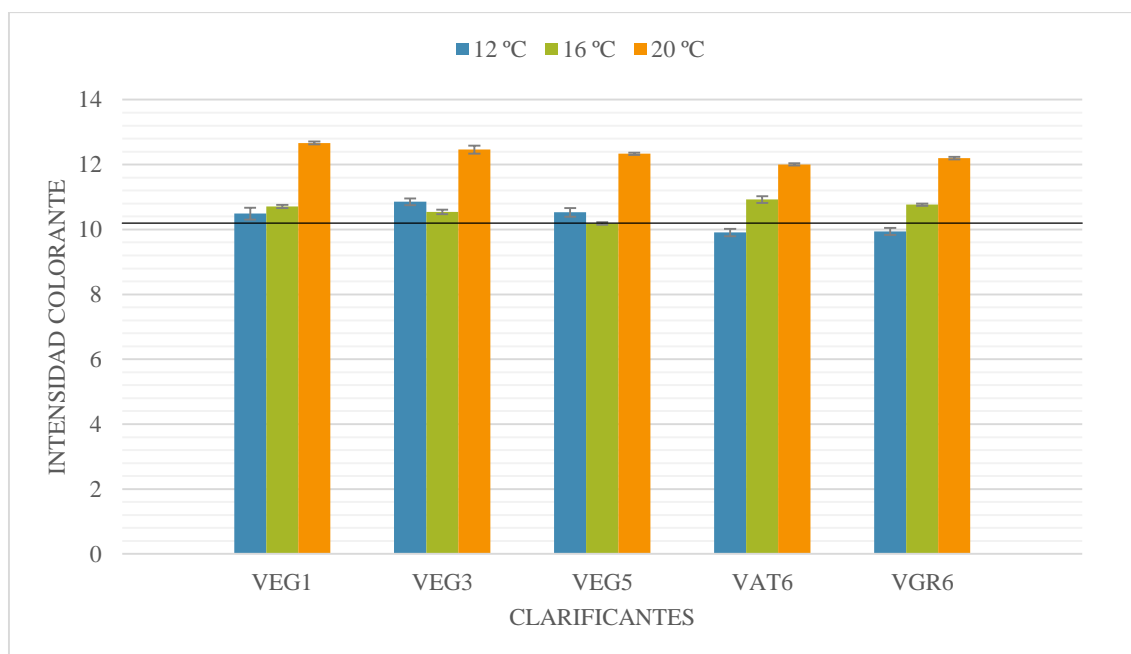


Figura 3.14. Intensidad colorante en función de la temperatura y de la dosis de proteína. VEG1: Proteína de patata a 1 g/hL; VEG3: Proteína de patata a 3 g/hL; VEG5: Proteína de patata a 5 g/hL; VAT6: Gelatina Vinigel AT a 6 g/hL; VGR6: Gelatina Vinigel GR a 6 g/hL.

*La línea continua representa el valor inicial de intensidad colorante.

Como muestran estos resultados, el clarificante de origen vegetal no hizo disminuir este parámetro en ninguno de los ensayos. Con las temperaturas de 12 y 16 °C se obtuvieron valores similares a los del vino original y en cambio, en los ensayos a 20 °C se aprecia un aumento importante de la intensidad colorante.

Los resultados para este parámetro concuerdan con los obtenidos en el estudio de Gambuti *et al.* (2012), en el cual la proteína de patata tampoco hizo disminuir la intensidad colorante del vino.

Por otra parte, en las clarificaciones realizadas con las gelatinas se observa que el valor de este parámetro es más pequeño cuanto menor es la temperatura. Los valores más bajos de intensidad colorante se obtuvieron con los ensayos llevados a cabo a 12 °C, en los cuales este parámetro incluso disminuyó con respecto a la medida en el vino sin clarificar.

Con respecto a la dosis de proteína de patata, se observó que para las temperaturas de 16 y 20 °C, un aumento en la dosis supuso una intensidad colorante menor en el vino clarificado. Sin embargo, en los ensayos realizados a 12 °C precisamente el vino clarificado con la dosis más baja (1 g/hL) fue el que alcanzó el valor de intensidad colorante más bajo.

3.3.2.2. Tonalidad

El otro parámetro estudiado relacionado con el color fue la tonalidad, y como la interacción entre temperatura y la dosis también produjo diferencias significativas en los resultados de este parámetro, se analizó el efecto de la dosis según la temperatura del ensayo:

Cuadro 3.10. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) de la tonalidad según la dosis y para cada temperatura.

Temperatura [°C]	Valor p	Grupos homogéneos según dosis
12	0,0443	1 ^a
		3 ^b
		5 ^{a,b}
16	0,2290	1 ^c
		3 ^c
		5 ^c
20	0,0317	1 ^d
		3 ^{d,e}
		5 ^e

Nivel de confianza del 95%.

Valores de $p > 0,05$ indican que no existen diferencias significativas.

Letras iguales indican que no existen diferencias significativas (Prueba de Tukey)

Tras este análisis se encontraron diferencias significativas en los resultados de los ensayos llevados a cabo a 12 y 20 °C y se identificaron dos grupos homogéneos en cada uno de ellos.

En los ensayos realizados a 12 °C se encontraron diferencias significativas entre los valores de la tonalidad obtenidos con las dosis de 1 y 3 g/hL, y por lo tanto se definió un grupo homogéneo con las dosis de 1 y 5 g/hL y otro con las dosis de 3 y 5 g/hL.

Por otro lado, en los ensayos a 20 °C los grupos homogéneos estuvieron compuestos por las dosis de 1 y 3 g/hL y las de 3 y 5g/hL.

A continuación se muestra la figura 3.15. donde se representan los valores de tonalidad en función del tipo de clarificante, su dosis y la temperatura del ensayo:

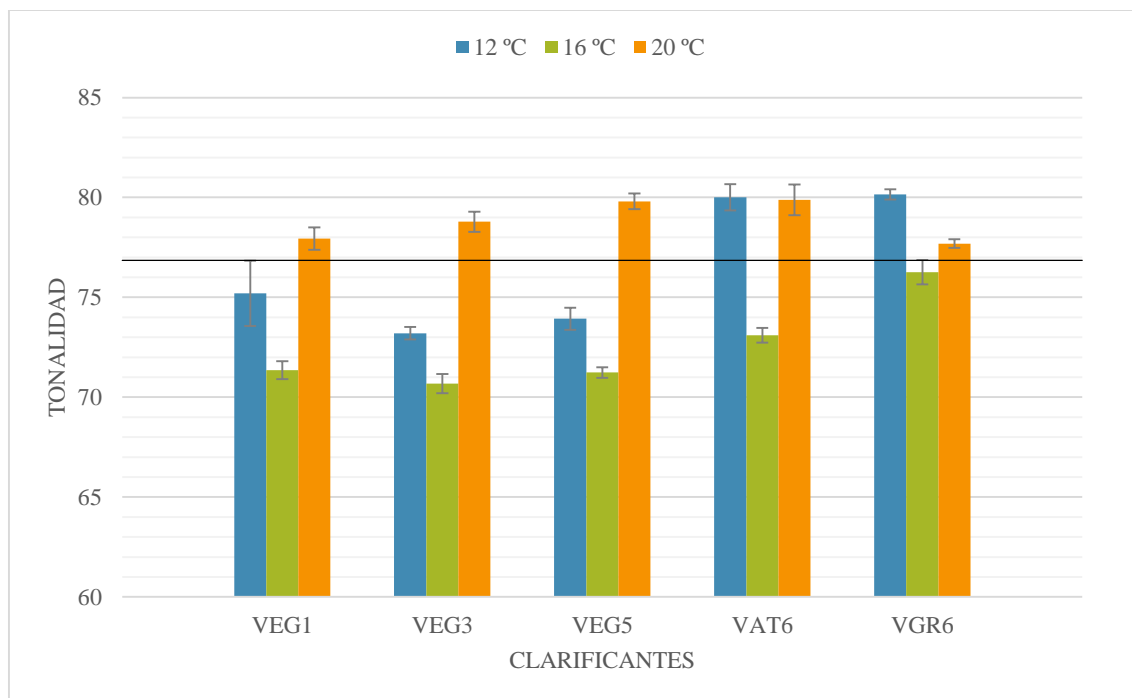


Figura 3.15. Tonalidad en función de la temperatura y de la dosis de proteína.
 VEG1: Proteína de patata a 1 g/hL; VEG3: Proteína de patata a 3 g/hL; VEG5: Proteína de patata a 5 g/hL; VAT6: Gelatina Vinigel AT a 6 g/hL; VGR6: Gelatina Vinigel GR a 6 g/hL.
**La línea continua representa el valor inicial de tonalidad.*

Ambas proteínas produjeron efectos muy diversos en la tonalidad dependiendo de la temperatura del ensayo.

Por un lado, los niveles más bajos de este parámetro obtenidos con la proteína de patata se alcanzaron a la temperatura de 16 °C, donde la tonalidad disminuyó hasta en seis puntos con respecto al valor medido inicialmente.

Por el contrario, los resultados más elevados de tonalidad fueron los correspondientes a la clarificación a 20 °C, los cuales superaron el valor medido en el vino sin tratar. Además, este fue el único ensayo en el que no disminuyó este parámetro con el clarificante vegetal. Este aumento de la tonalidad nos informa de un viraje del color del vino hacia tonos más marrones, ya que la tonalidad está expresada como la relación entre los valores de absorbancia medidos a las longitudes de onda de 420 nm (responsable del color amarillo) y 520 nm (responsable del color rojo). Este pardeamiento del vino observado con la temperatura de 20 °C posiblemente sea debido a la oxidación del vino con el paso del tiempo (los ensayos realizados a esta temperatura fueron los últimos en realizarse) y por este motivo los valores de tonalidad a esta temperatura no se pueden atribuir exclusivamente al efecto del clarificante, ya que estos valores también se vieron influenciados por la propia evolución del vino.

La temperatura influyó de manera diferente para los clarificantes de origen animal. En este caso el valor de la tonalidad superó el del valor inicial cuando las clarificaciones se realizaron a

la temperatura más elevada y la más baja, mientras que disminuyó (en menor grado que con la proteína de patata) en los ensayos llevados a cabo a 16 °C.

En cuanto a efecto de la dosis de proteína de patata, se observó que para los ensayos realizados a 12 y 16 °C fue la dosis intermedia de 3 g/hL la que más redujo el valor de la tonalidad. Sin embargo, a 20 °C se produjo una mayor reducción de este valor cuanto menor fue la dosis de clarificante empleada.

3.3.3. Efecto de los factores estudiados sobre los parámetros tecnológicos de la clarificación

En este último apartado se exponen los resultados de los análisis estadísticos correspondientes a la reducción de la turbidez y el volumen de lías generados en el vino clarificado. La interacción de la temperatura y la dosis no tuvo un efecto significativo en ninguno de estos dos parámetros, por lo que en el análisis estadístico se estudiaron los dos factores por separado.

3.3.3.1. Reducción de turbidez

En primer lugar se presentan los resultados para el parámetro reducción de la turbidez calculada teniendo en cuenta la turbidez en el instante anterior a la adición del clarificante y la turbidez a las 48 horas

Cuadro 3.11. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) de la reducción de turbidez según la temperatura y la dosis.

Factor	Valor p	Grupos homogéneos
Temperatura	0,0025	12 ^a
		16 ^b
		20 ^b
Dosis	0,0001	1 ^c
		3 ^d
		5 ^e

Nivel de confianza del 95%.

Valores de $p > 0,05$ indican que no existen diferencias significativas.

Letras iguales indican que no existen diferencias significativas (Prueba de Tukey)

Como se observa en el cuadro 3.11. tanto la temperatura como la dosis causaron diferencias estadísticamente significativas en los valores de reducción de la turbidez.

Para la temperatura se identificaron dos grupos homogéneos, donde se separan por un lado las temperaturas de 16 y 20 °C y por otro la temperatura de 12 °C.

En cuanto al efecto de la dosis, éste fue mayor y provocó diferencias significativas en los resultados obtenidos con cada dosis, definiendo de este modo tres grupos homogéneos.

A continuación se presentan los resultados de este parámetro de los ensayos realizados con la proteína de patata y las gelatinas (Figura 3.16.).

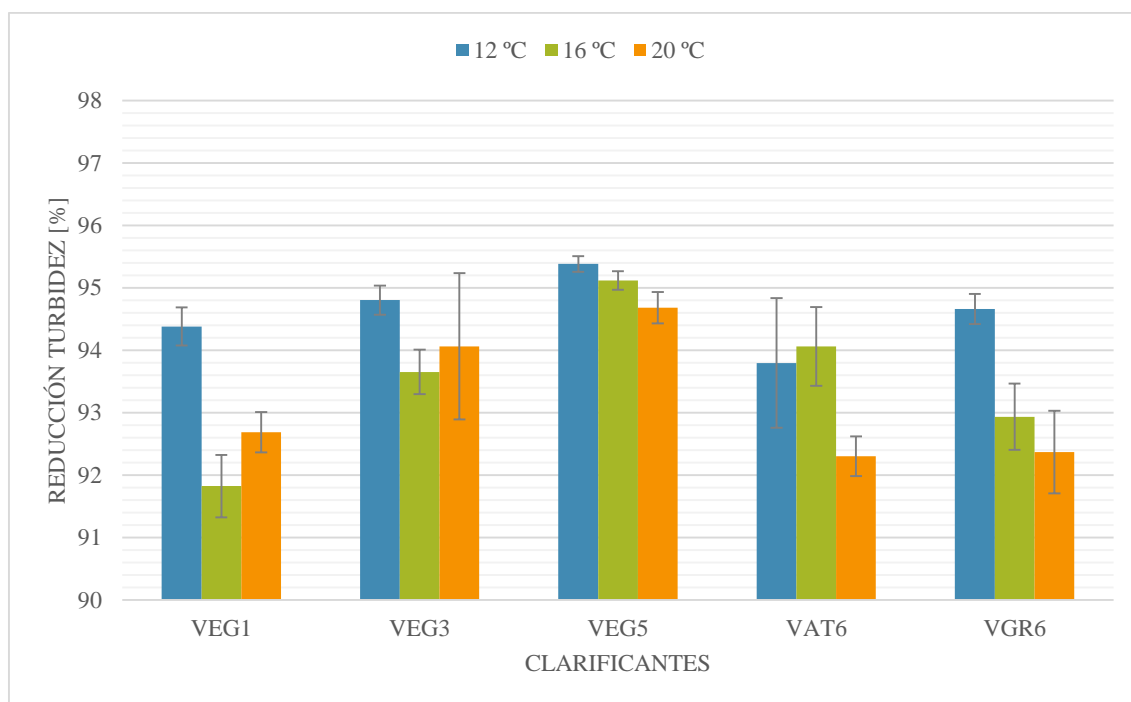


Figura 3.16. Reducción de la turbidez en función de la temperatura y de la dosis de proteína.
 VEG1: Proteína de patata a 1 g/hL; VEG3: Proteína de patata a 3 g/hL; VEG5: Proteína de patata a 5 g/hL; VAT6: Gelatina Vinigel AT a 6 g/hL; VGR6: Gelatina Vinigel GR a 6 g/hL.

En general, todas las proteínas alcanzaron altos niveles de reducción de la turbidez, siempre por encima del 90%. Para la proteína de patata se lograron las mayores reducciones de turbidez con la temperatura más baja, donde se redujo en más del 94%.

En cuanto a la dosis, se demostró que utilizando dosis más altas del clarificante de origen vegetal se conseguían mejores resultados. Con la dosis de 5 g/hL los valores de reducción fueron mayores que los alcanzados con las gelatinas de referencia, mientras que con la dosis intermedia se obtuvieron resultados similares. En el caso de la dosis de 1 g/hL los resultados varían dependiendo de la temperatura del ensayo; a 12 °C la reducción de turbidez es similar a la conseguida por los clarificantes de origen animal, pero para las temperaturas de 16 y 20 °C se alcanzaron niveles de reducción menores.

Los resultados obtenidos en los estudios de Iturmendi *et al.* (2013a, 2013b, 2013c) coinciden con los del presente estudio, donde se determina que la proteína de patata es capaz de causar disminuciones de la turbidez comparables a las de la gelatina incluso a dosis más bajas.

3.3.3.2. Volumen de lías

El último parámetro estudiado fue el volumen de lías generado después de la clarificación. Los resultados de este parámetro se muestran en el cuadro 3.12.:

Cuadro 3.12. Significación estadística (valor p) y resultados de la prueba de rangos múltiples (grupos homogéneos) del volumen de lías según la temperatura y la dosis.

Factor	Valor p	Grupos homogéneos
Temperatura	0,5389	12 ^a
		16 ^a
		20 ^a
Dosis	0,0000	1 ^b
		3 ^c
		5 ^d

Nivel de confianza del 95%.

Valores de $p > 0,05$ indican que no existen diferencias significativas.

Letras iguales indican que no existen diferencias significativas (Prueba de Tukey)

En este último caso el análisis estadístico determinó que existían diferencias significativas en relación con la dosis de proteína. El efecto de este factor volvió a ser importante y de nuevo se definieron tres grupos homogéneos.

Por otra parte, en los resultados del volumen de lías obtenidos con las diferentes temperaturas no se encontraron diferencias significativas.

Los volúmenes de lías generados en cada ensayo de clarificación se muestran en la figura 3.17.:

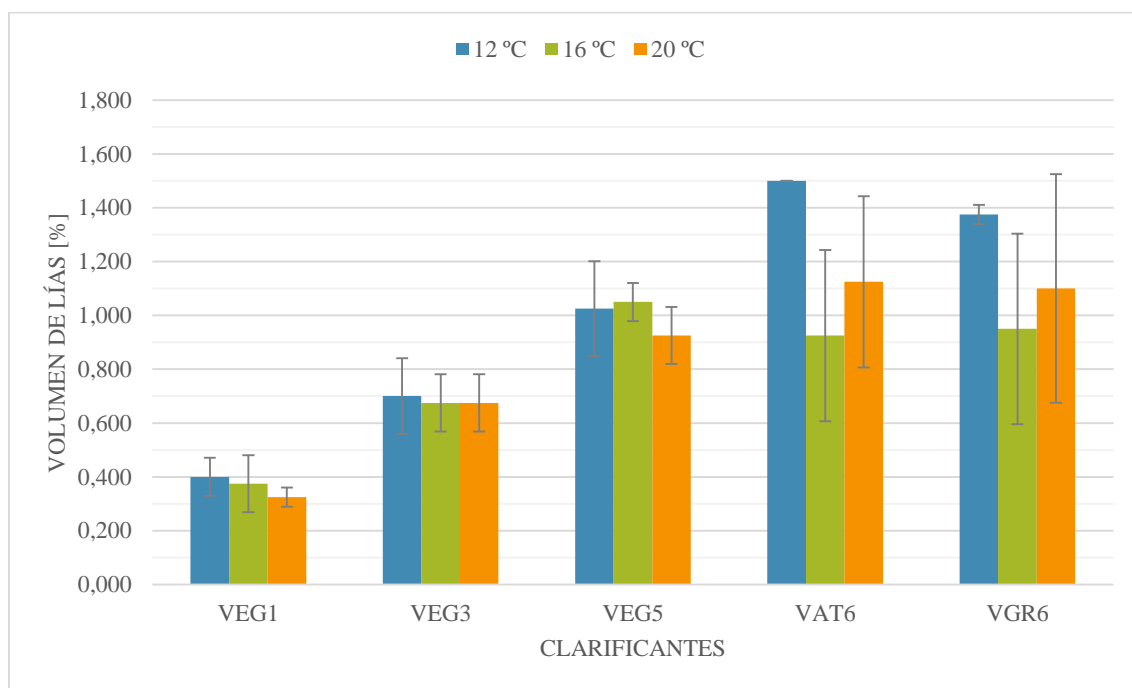


Figura 3.17. Volumen de lías en función de la temperatura y de la dosis de proteína.

VEG1: Proteína de patata a 1 g/hL; VEG3: Proteína de patata a 3 g/hL; VEG5: Proteína de patata a 5 g/hL; VAT6: Gelatina Vinigel AT a 6 g/hL; VGR6: Gelatina Vinigel GR a 6 g/hL.

La temperatura no influyó en la cantidad de lías por parte de la proteína de patata, pero sí lo hizo en el caso de las gelatinas. Con estos clarificantes se produjeron mayores volúmenes de lías con 12 °C, seguidos por los producidos a 20 °C y finalmente los generados a 16 °C, que obtuvieron

los porcentajes más bajos llegando a estar incluso por debajo de los producidos por la proteína de patata a dosis alta.

La dosis de clarificante vegetal sí influyó en cuanto a las lías producidas en cada ensayo, produciéndose un mayor volumen de éstas cuando las dosis empleadas también eran mayores. De esta forma, las dosis de proteína de patata de 1 y 3 g/hL serían las más adecuadas para la clarificación en función de este parámetro.

Con estos resultados se demuestra que en la gran mayoría de los casos la proteína de origen vegetal genera menores cantidades de lías que las de origen animal, ya que este parámetro solamente fue superior en el ensayo a 16 °C y con la dosis de 5 g/hL. Esta comparación de los resultados en función del origen del clarificante concuerda con lo observado en otros estudios anteriores como los de Durán (2004), Noriega *et al.* (2010) e Iturmendi *et al.* (2010).

3.4. ESTUDIO DE LA CINÉTICA DE LA CLARIFICACIÓN

Los ensayos de la cinética de la clarificación se realizaron con las tres dosis de proteína de patata y a las temperaturas de 12, 16 y 20 °C, y en ellos se estudió la evolución de la turbidez del vino desde el momento en el que se adicionó el clarificante hasta 48 horas después.

Los resultados de estos ensayos para cada temperatura se representan a continuación, donde primero se representa la turbidez durante todo el ensayo y en segundo lugar la cinética del encolado durante los primeros 60 minutos.

En la figura 3.18. se muestran los resultados del primero de estos ensayos llevado a cabo a 12 °C. En los primeros minutos las dosis de 3 y 5 g/hL se comportaron de manera muy parecida y alcanzaron sus valores máximos de floculación entre los 7 y los 15 minutos (estos valores máximos indican el momento de la formación de los flóculos creados por la reacción entre el clarificante y los componentes del vino). En cambio, en el ensayo con la dosis de 1 g/hL de clarificante no se apreció ninguna subida de la turbidez posiblemente porque al ser una dosis tan baja, la floculación que provocó en el vino también fue muy pequeña.

Al igual que se observó en el estudio de la cinética del encolado de Durán (2004), seguidamente a este aumento rápido de la turbidez se observa un descenso de ésta y a las dos horas de ensayo todas las dosis habían conseguido situar la turbidez por debajo de los 100 NTU.

A partir de este punto las tres dosis mostraron una tendencia similar, pero siempre reduciendo más la turbidez cuanto mayor era la dosis de proteína.

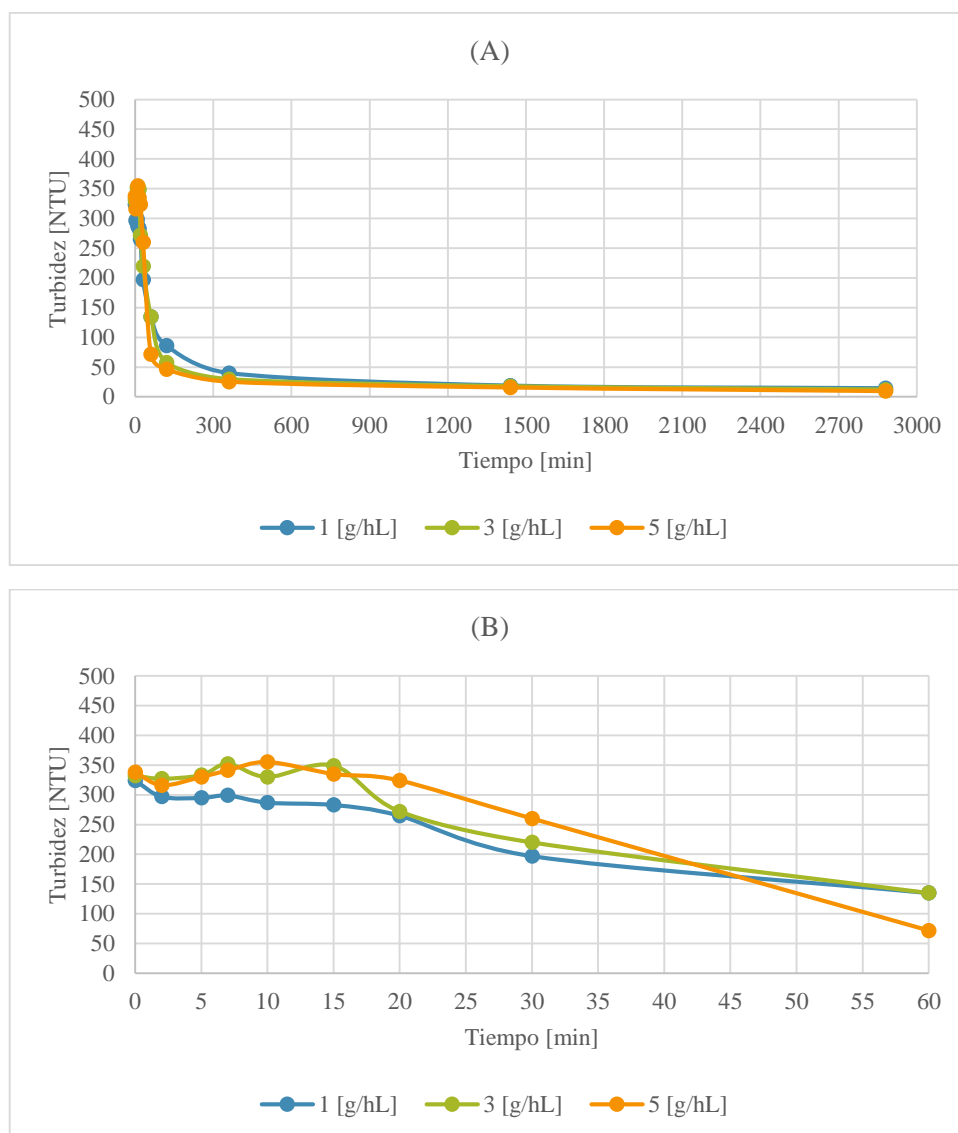


Figura 3.18. Cinética de la clarificación a 12 °C. (A) Representación de la turbidez (NTU) durante 48 horas, y (B) Turbidez (NTU) en los primeros 60 minutos tras la adición del clarificante.

En cuanto al ensayo realizado a 16 °C (figura 3.19.) se obtuvieron unos resultados muy parecidos a los del ensayo anterior.

En este caso hubo una menor diferencia entre los comportamientos observados en las dosis de 3 y 5 g/hL durante los primeros minutos. Ambas dosis produjeron el mayor aumento de la turbidez entre los 7 y los 10 minutos, con valores ligeramente superiores a los obtenidos en el ensayo a 12 °C. En cuanto a la dosis de 1 g/hL de proteína, se volvió a observar el mismo comportamiento que en el caso anterior puesto que tampoco se observó un incremento en la turbidez tras la adición del clarificante.

Al finalizar el ensayo los valores de la turbidez del vino fueron algo más elevados que los del caso anterior.

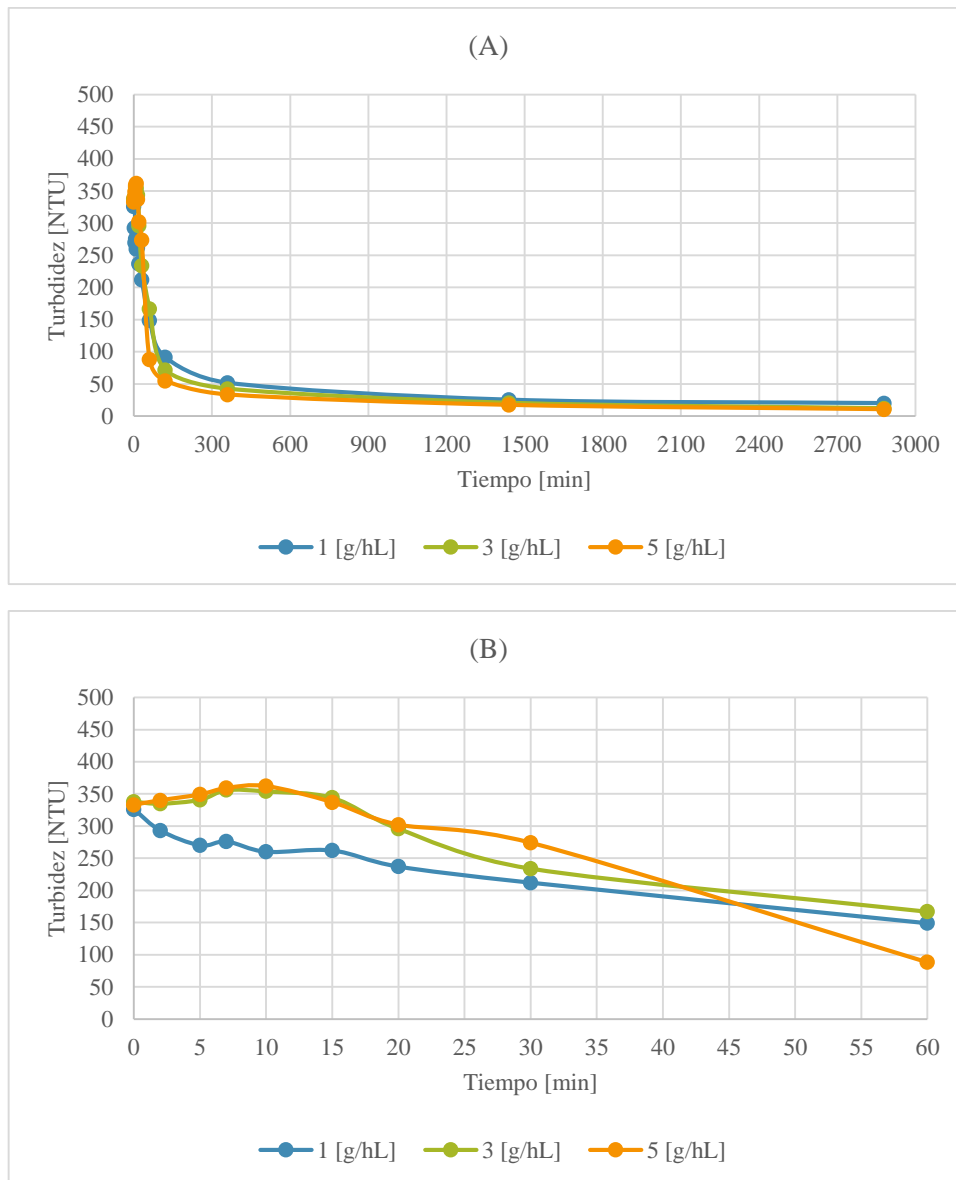


Figura 3.19. Cinética de la clarificación a 16 °C. (A) Representación de la turbidez (NTU) durante 48 horas, y (B) Turbidez (NTU) en los primeros 60 minutos tras la adición del clarificante.

Por otro lado, los resultados del ensayo de clarificación a 20 °C se representan en la figura 3.20.

En este último caso se observó la máxima floculación a los 15 minutos para las dosis alta y baja, y a los 20 minutos para la dosis intermedia de clarificante. El dato alcanzado con la dosis de 5 g/hL fue superior al conseguido en los ensayos a temperaturas más bajas, llegando a superar los 450 NTU. Además, este fue el único caso donde se observó que la floculación producida en el vino con la dosis de 1 g/hL incrementaba la turbidez.

Al igual que en los casos anteriores, a las dos horas de ensayo la turbidez ya se encontraba por debajo de los 100 NTU y continuó disminuyendo de la misma manera hasta alcanzar valores próximos a los 12-15 NTU.

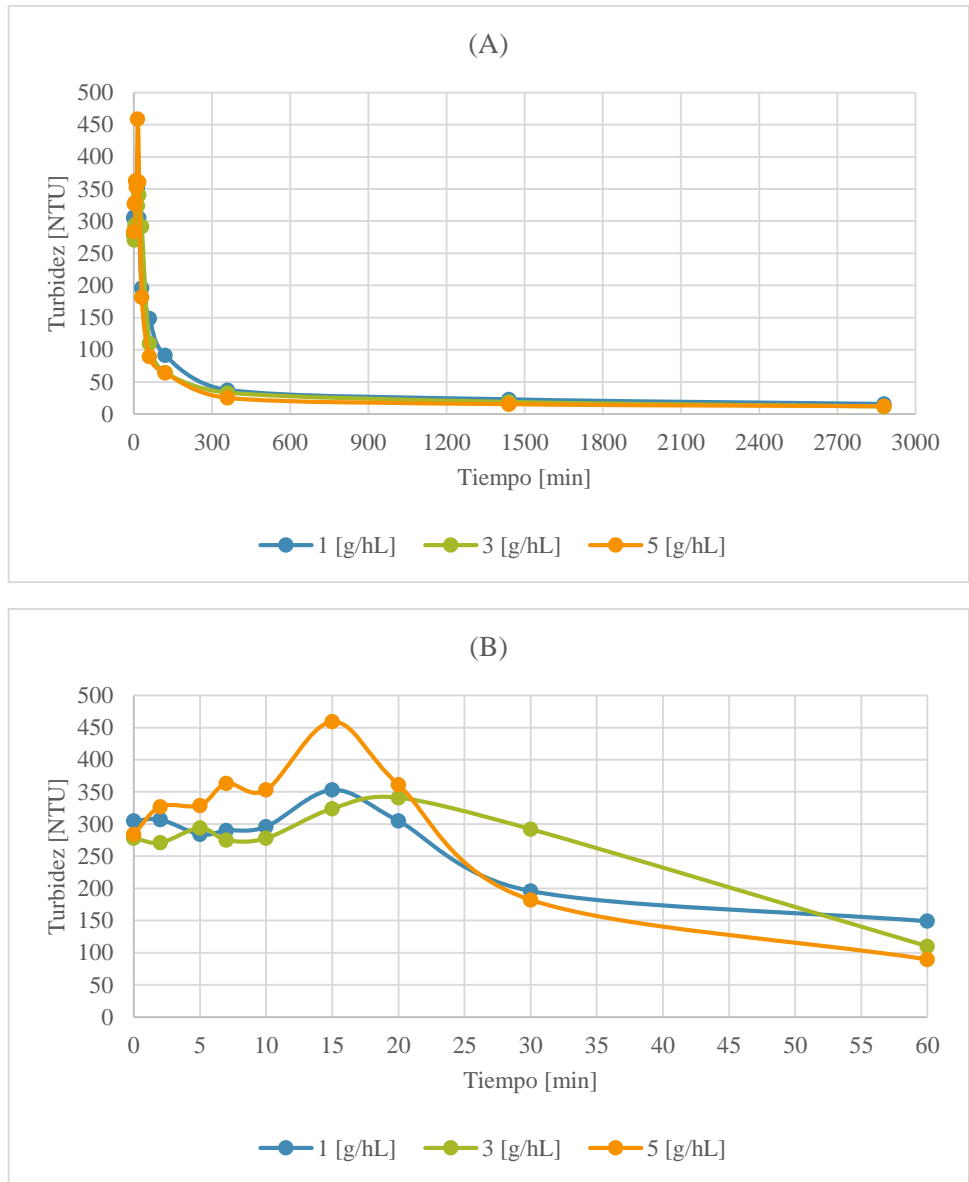


Figura 3.20. Cinética de la clarificación a 20 °C. (A) Representación de la turbidez (NTU) durante 48 horas, y (B) Turbidez (NTU) en los primeros 60 minutos tras la adición del clarificante.

3.4.1. Capacidad de floculación

Los resultados obtenidos para este parámetro se recogen en el cuadro 3.13.:

Cuadro 3.13. Capacidad de floculación en NTU.

Dosis de clarificante [g/hL]	Temperatura [°C]		
	12	16	20
1	0,00	0,00	48,00
3	20,00	18,00	63,00
5	17,00	29,00	175,00

Observando los resultados en función de la temperatura se distinguen dos grupos. El primero de ellos está formado por las temperaturas de 12 y 16 °C, donde los resultados son muy similares. En ambos ensayos los resultados para las dosis de 3 y 5 g/hL se encuentran dentro del rango de 17-29 NTU, mientras que en la dosis de 1 g/hL la floculación producida por el clarificante no alteró la turbidez del vino.

Por otra parte se distinguen los ensayos realizados a 20 °C, donde se alcanzaron valores de turbidez mayores para las tres dosis empleadas. En este caso el valor de la capacidad de floculación fue mayor cuanto mayor fue la dosis de proteína.

3.4.2. Capacidad de clarificación

El cuadro 3.14. contiene los valores de la capacidad de clarificación en función de la dosis de proteína y la temperatura del ensayo.

Cuadro 3.14. Capacidad de clarificación en NTU.

Dosis de clarificante [g/hL]	Temperatura [°C]		
	12	16	20
1	309,50	305,80	289,20
3	319,70	325,80	266,30
5	328,14	322,20	271,50

Con estos resultados se vuelven a distinguir los dos grupos comentados anteriormente. La capacidad de clarificación fue mayor en los ensayos a 12 y 16 °C, y fue siempre superior a 300 NTU. El máximo valor alcanzado fue de 328,14 NTU, conseguido por la dosis de 5 g/hL a 12 °C.

En los ensayos llevados a cabo a 20 °C se obtuvieron valores menores a los 300 NTU y en los que la máxima capacidad de clarificación fue la alcanzada con la dosis de 1 g/hL.

Por lo tanto, de estos resultados se entiende que una alta capacidad de clarificación se ve favorecida con las bajas temperaturas y con dosis de clarificante altas, ensayos en los cuales también se observa una mayor reducción de la turbidez. Esta relación coincide con la que determinó Armendáriz (2006) en su estudio sobre la cinética del encolado con proteínas vegetales.

3.4.3. Velocidad de floculación y sedimentación

Los últimos parámetros estudiados relacionados con la cinética de la clarificación son las velocidades de floculación y de sedimentación, que se muestran en la figura 3.21. En esta figura se representan las dos primeras horas de ensayo puesto que pasado este tiempo todos los valores de velocidad se encontraban muy próximos a cero.

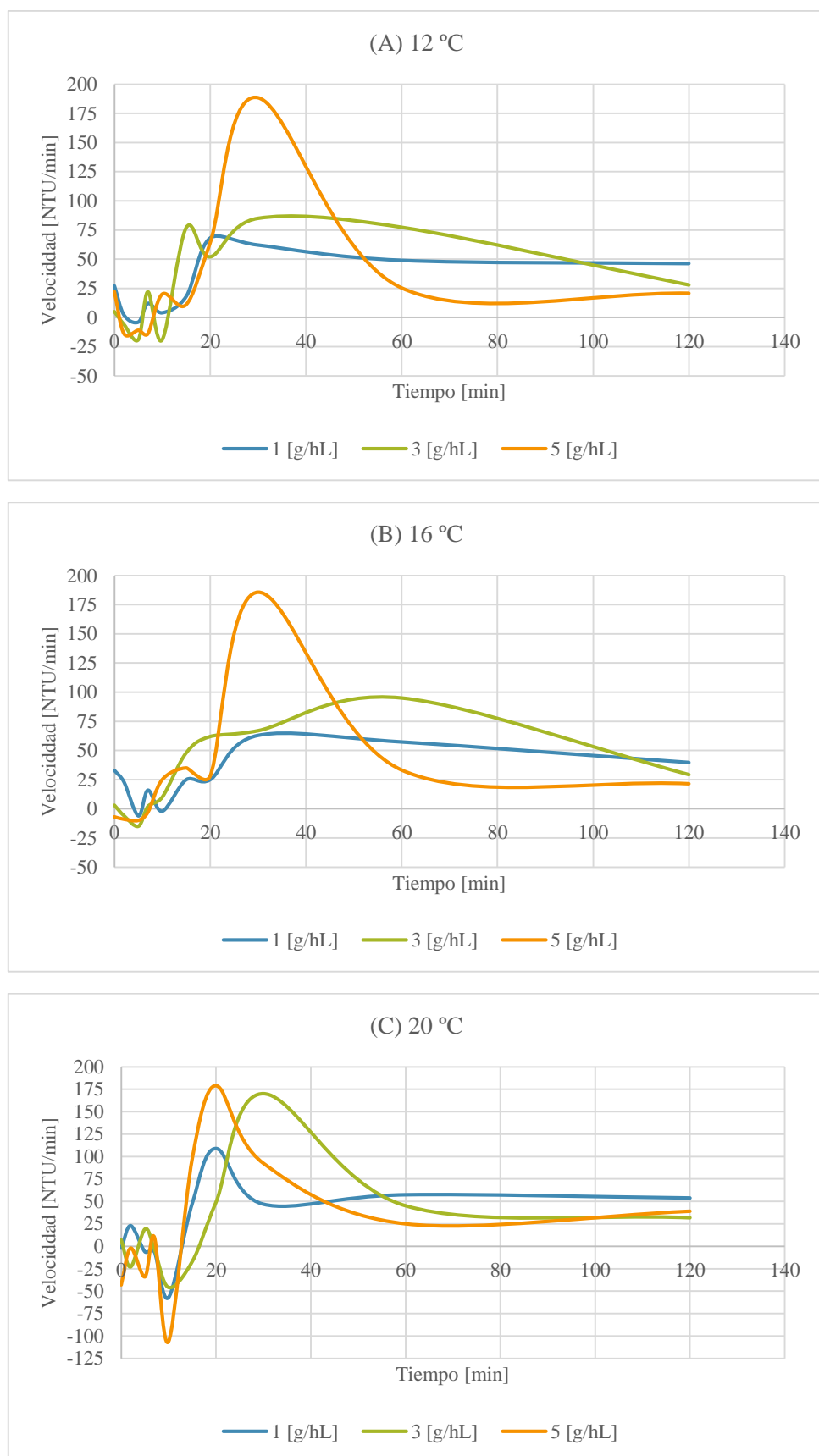


Figura 3.21. Velocidades de floculación y de sedimentación. (A): Temperatura de 12 °C; (B): Temperatura de 16 °C; (C): Temperatura de 20 °C.

En la figura 3.21. se observa un comportamiento muy similar de las tres dosis de proteína de patata en los ensayos realizados a 12 y 16 °C.

En estos dos ensayos destaca la velocidad de floculación alcanzada por la dosis más alta (5 g/hL), que fue de alrededor de 185 NTU/ min a los 30 minutos de ensayo. El descenso que se produce a continuación es más pronunciado que en el resto de casos y finalmente es ésta la dosis que consigue reducir la turbidez en mayor medida. En segundo lugar se encuentra la dosis de 3 g/hL que a los 30-60 minutos consigue una velocidad de floculación que es aproximadamente la mitad de la conseguida con la dosis alta, y a las dos horas de ensayo su velocidad de sedimentación es mayor que la de la dosis de 5 g/hL y menor que la de la dosis de 1 g/hL. En tercer y último lugar se observa que los valores de velocidad para el caso de la dosis de 1 g/hL fueron menores (por debajo de los 75 NTU/min) y también fue la que generó los valores más bajos de reducción de la turbidez.

Con estos resultados se puede deducir que existe una relación entre una mayor velocidad de floculación y una mayor reducción de la turbidez.

Por otra parte, en los ensayos llevados a cabo a 20 °C los resultados obtenidos correspondientes a las dosis de 3 y 5 g/hL estuvieron más igualados. Ambas dosis alcanzaron velocidades de floculación entre los 170-180 NTU/min (la dosis de 5 g/hL lo hizo a los 20 minutos y la de 3 g/hL a los 30 minutos) y a partir de ahí continuaron de una manera similar hasta reducir la turbidez en valores muy parecidos. En cuanto a la dosis de 1 g/hL, a esta temperatura se observó una mayor velocidad de floculación, llegando a superar los 100 NTU/min a los 20 minutos de ensayo. Aun así, a 20 °C también volvió a ser la dosis que menos redujo la turbidez en el vino.

A esta temperatura se volvió a cumplir la relación observada en las dos temperaturas anteriores, ya que las dosis que alcanzaron mayores velocidades de floculación también fueron las que obtuvieron mejores resultados de reducción de turbidez.

4. CONCLUSIONES

➤ **Existe influencia de la temperatura en la composición fenólica y el color del vino clarificado:**

- Las temperaturas de 12 y 16 °C favorecen la disminución del índice de polifenoles totales y la cantidad de taninos totales, mientras que a 20 °C el parámetro que se redujo en mayor medida fue el índice de etanol.
- La temperatura de 16 °C también se mostró como la más adecuada para la disminución de la astringencia, puesto que provocó una mayor disminución del índice de gelatina a la vez que fue la temperatura que menos alteró el índice de etanol. Sin embargo, a esta temperatura también se obtuvieron los valores más bajos de antocianos totales y tonalidad, ambos parámetros relacionados con el color del vino.
- Con la temperatura de 20 °C se conservaron mejor el IPT, la cantidad de antocianos totales, la cantidad de taninos totales y la tonalidad.

➤ **Existe influencia de la temperatura en los parámetros tecnológicos de la clarificación:**

- Las mayores reducciones de turbidez se obtuvieron con la temperatura de 12 °C, mientras que el volumen de lías no pareció verse afectado por la temperatura del ensayo.

➤ **Existe influencia de la dosis de proteína de patata en la composición fenólica y el color del vino clarificado:**

- Los siguientes parámetros se vieron reducidos en mayor medida por las dosis altas de proteína: IPT, antocianos totales, taninos totales, índice de gelatina, intensidad colorante y tonalidad. Por lo tanto, utilizando dosis más bajas de proteína se consigue alterar en menor medida la composición del vino.

➤ **Existe influencia de la dosis de proteína de patata en los parámetros tecnológicos de la clarificación:**

- La influencia de la dosis de proteína en estos parámetros fue muy importante. Con dosis altas de proteína se obtuvieron vinos más límpidos pero el volumen de las lías generadas fue mayor.

- **Este estudio demuestra que la proteína de patata es una buena alternativa a los clarificantes de origen animal por los siguientes motivos:**
 - La proteína de patata mostró un comportamiento comparable a las dos gelatinas estudiadas en cuanto a la reducción de la astringencia y la conservación del color del vino clarificado. Además, disminuyó la cantidad de antocianos totales en menor medida.
 - También se obtuvieron valores de reducción de turbidez similares incluso a dosis más bajas y el volumen de lías generado fue menor.

- **Conclusiones respecto a la cinética del encolado:**
 - La temperatura influyó en los valores de la capacidad de floculación. Los resultados más elevados de este parámetro se alcanzaron en los ensayos realizados a 20 °C.
 - La capacidad de clarificación y la velocidad de floculación se vieron influenciadas por la temperatura y la dosis de proteína. Los valores de estos parámetros fueron mayores en los ensayos con temperaturas bajas y las dosis altas de clarificante. Además, se determinó que valores altos de los dos parámetros están asociados con una mayor reducción de la turbidez.
 - En general, las mayores velocidades de floculación y sedimentación se consiguieron en los primeros 20 - 30 minutos. Los valores más elevados de estas dos velocidades en las dosis de 1 y 3 g/hL se lograron a 20 °C, mientras que la dosis de 5 g/hL prácticamente no se vio afectada por la temperatura.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Arellano, L. (2008). *Proyecto Fin de Carrera: "Avances en el estudio de la clarificación de vino tinto con gluten: influencia del pH"*. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Pública de Navarra.
- Armendáriz, R. (2006). *Proyecto Fin de Carrera: "Avances en el estudio de la clarificación de vino tinto con gluten: influencia de la temperatura"*. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Pública de Navarra.
- Blouin, J. y Peynaud, E. (2004). *Enología Práctica*. 4ª Edición, Mundi Prensas. Madrid.
- Castells, M.C., Pascual, C., Martín Esteban, M. & Ojeda J.A. (1986). Allergy to white potato. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 78, pp.1110–1114.
- Durán, D. S. (2004). *Tesis: "Estudio de las proteínas de origen no animal como clarificantes enológicos en vinos tintos de Navarra"*. Departamento de Química Aplicada. Universidad Pública de Navarra.
- Durán, D. S. (2010). Progresos en la clarificación de vinos con proteínas de origen no animal. *@limentech, Ciencia Y Tecnología Alimentaria*, 8(2), pp.139–146.
- Flancy, C. (2003). *Enología: fundamentos científicos y tecnológicos*. 2ª Edición, Mundi Prensas. Madrid.
- Gambutì, A., Rinaldi, A. & Moio, L. (2012). Use of patatin, a protein extracted from potato, as alternative to animal proteins in fining of red wine. *European Food Research and Technology*, 235(4), pp.753–765.
- Glories, Y. (1984). Le couleur des vins rouges. 2 Partie. Mesure, origine et interpretation. *Connaissance de la vigne et du vin*, 18(4), pp.253–271.
- Granato, T.M., Nasi, A., Ferranti, P., Iametti, S. & Bonomi, F. (2013). Fining white wine with plant proteins: effects of fining on proanthocyanidins and aroma components. *European Food Research and Technology*, 238(2), pp.265–274.
- Hidalgo, J. (2011). *Tratado de Enología. Tomo II*. 2ª Edición, Mundi Prensas. Madrid.
- Iturmendi, N. (2005). *Memoria de investigación presentada para optar a la superación de la prueba de suficiencia investigadora en el programa de doctorado: "Influencia de las características físico-químicas de los agentes clarificantes en el encolado de vinos tintos jóvenes"*. Departamento de Química Aplicada. Universidad Pública de Navarra.
- Iturmendi, N. (2009). *Tesis: "Contribución al estudio de la clarificación en vinos tintos. Influencia de los agentes clarificantes y de las condiciones del proceso"*. Departamento de Química Aplicada. Universidad Pública de Navarra.
- Iturmendi, N., Durán, D. S. & Marín, M.R. (2010). Fining of red wines with gluten or yeast extract protein. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(2), pp.200–207.

- Iturmendi, N., Durán, D. S. y Marín, M.R. (2005). Caracterización de proteínas con fines de utilización en la clarificación de vinos. Influencia de las condiciones del medio. *Bulletin de l'OIV*, 79(Nº 891-892), pp.335–346.
- Iturmendi, N., Moine, V. & O'Kennedy, K. (2013a). Potato, a new source of vegetal protein for allergen-free fining of juice and wine. *Australian and New Zeland Grapegrower and Winemaker*, November(598), pp.67–70.
- Iturmendi, N., Moine, V., Renouf, V., Rinaldi, A., Gambuti, A. et Moio, L. (2013b). Agent de collage des moûts et des vins. Une nouvelle source de protéine végétale, la pomme de terre. *Revue des oenologues et des techniques vitivinicoles et oenologiques: magazine trimestrel d'information professionnelle*, 40(149), pp.25–28.
- Iturmendi, N., Moine, V., Renouf, V., Rinladi, A., Gambuti, A. & Moio, L. (2013c). Vegecoll®, a revolutionary new vegetal, allergen-free fining alternative to gelatine and egg white. *Wineland*, (November), pp.111–114.
- Lagune-Ammirati, L. (1994). *These de Doctorat: "Étude des gelatines œnologiques et des mécanismes du collage dans les vins rouges"*. Ecole doctorale des sciences biologiques et medicales. Universié de Bordeaux II.
- Lefebvre, S. (2001). Estudios de clarificación con proteinas de origen vegetal. *La Semana Vitivinícola*, 2882, pp.3846–3855.
- Lefebvre, S., Gerland, C., Maury, C. et Gazzola, M. (2000). Nouvelles colles végétales : origines, propriétés et performances. *Revue Française d'OEnologie*, Nº 184(1).
- Lefebvre, S., Maury, C. et Poinssaut, P. (1999). Le collage des vins: Influence du poids moléculaire des gelatines et premiers essais de colles d'origine végétale. *Revue des oenologues et des techniques vitivinicoles et oenologiques: magazine trimestrel d'information professionnelle*, 93s, pp.37–40.
- Marchal, R., Venle, G., Marchal-Delahaut, L., Valade, J.P., Bournérias, P.Y. et Jeandet, P. (2000). Utilisation de protéines de blé pour la clarification des moûts et des vins de base champenois. *Revue Française d'OEnologie*, 184, pp.12–18.
- Marchal, R., Marchal-Delahaut, L., Lallement, A. & Jeandet, P. (2002). Wheat Gluten Used as a Clarifying Agent of Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, pp.177–184.
- Mira, H., Leite, P., Ricardo-Da-Silva, J.M. & Curvelo-García, A.S. (2006). Plant proteins in Wine Fining: Influence on Chemical and Sensory Characteristics. *Bulletin de l'OIV*, 79(Nº 904-906), pp.277–296.
- Molina, R. (2000). *Teoría de la clarificación de mostos y vinos y sus aplicaciones prácticas*. 1ª Edición, Mundi Prensa. Madrid.
- Noriega, M.J., Durán, D.S. & Marín, M.R. (2010). Non-animal proteins as clarifying agents for red wines. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 44(3), pp.179–189.
- Panero, L., Bosso, A., Gazzola, M., Scotti, B. e Lefebvre, S. (2001). Primi risultati di chiarifica con proteine di origine vegetale condotte su vino Uva di Troia. *Vignevini*, 11, pp.117–126.

- Reglamento (CE) nº 2165/2005 del Consejo que modifica el Reglamento (CE) nº 1493/1999 por el que se establece la organización común del mercado vitivinícola. Diario Oficial de la Unión Europea nº L 345. 20 de diciembre de 2005.
- Reglamento (CE) nº 606/2009 de la Comisión que fija determinadas disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) nº 479/2008 del Consejo en lo relativo a las categorías de productos vitícolas las prácticas enológicas y las restricciones aplicables. Diario Oficial de la Unión Europea nº L 193. 10 de julio de 2009.
- Reglamento (CE) nº 1251/2013 de la Comisión que modifica el Reglamento (CE) nº 606/2009 en lo que respecta a determinadas prácticas enológicas y el Reglamento (CE) nº 436/2009 en lo que respecta a la indicación de estas prácticas en los registros del sector vitivinícola. Diario Oficial de la Unión Europea nº L 323. 3 de diciembre de 2013.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. y Dubourdieu, D. (2002). *Tratado de Enología. Tomo II, Química del vino. Estabilización y tratamientos*. 1ª Edición. Buenos Aires: Hemisferio Sur.
- Tschiersch, C., Nikfardjam, M.P., Schmidt, O. & Schwack, W. (2010). Degree of hydrolysis of some vegetable proteins used as fining agents and its influence on polyphenol removal from red wine. *European Food Research and Technology*, 231(1), pp.65–74.
- Zamora, F. (2003). *Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos*. 1ª Edición., Mundi Prensa. Madrid.

6. ANEXOS



VEGECOLL®

Clarificante exclusivo a base de proteínas vegetales extraídas de patata.

Apta para la elaboración de productos destinados para la consumición humana directa y libre de alérgenos.

Conforme al Codex Enológico Internacional.

DESCRIPCIÓN Y PROPIEDADES ENOLÓGICAS

Desarrollado por el equipo de I&D de LAFFORT®, VEGECOLL®* es un extracto de proteínas vegetales proveniente de patata y especialmente seleccionado por sus cualidades de clarificación. Su alta concentración en proteínas nativas y su potencial Zeta* muy elevado hacen que sea una proteína altamente reactiva en enología.

VEGECOLL® se utiliza:

- **En mostos:** principalmente en flotación, con un tiempo de formación de lías muy corto y la eliminación de compuestos fenólicos oxidados u oxidables.
- **En vinos (blancos, rosados y tintos):** por su alta capacidad de clarificación, rápida velocidad de sedimentación, alta estabilización de la materia colorante y alta capacidad de eliminación de taninos astringentes en vinos tintos.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

- En flotación: tiempo de formación de lías muy corto y formación de fangos compactos.

	Tiempo de formación de fangos	Porcentaje de fangos	Turbidez final (NTU)
VEGECOLL® 5 g/hL	- 30 min	< de 10%	56
Gelatina 10 cL/hL	~ 1h 30 min	> de 10%	53

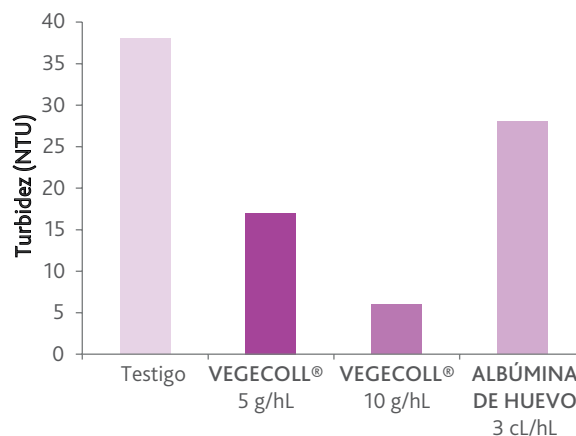
Ensayo realizado en un mosto de Colombard (2012), volumen de ensayo de 1000 hL.

- Fuerte reactividad con los taninos astringentes del vino.

	SPI (g CT/L)
TESTIGO	3,12 ± 0,09
ALBÚMINA DE HUEVO 3 cL/hL	2,84 ± 0,01
GELATINA 5 cL/hL	2,80 ± 0,14
VEGECOLL® 5 g/hL	2,42 ± 0,08

Ensayo realizado en un vino tinto de Merlot (2011). El índice SPI (ver referencia bibliográfica 4) permite estimar la astringencia del vino, expresado de 0 a 5 gramos de taninos condensados por litro. El índice cuantifica la reducción de proteínas salivares por electroforesis después de reaccionar con los taninos del vino.

- Alta capacidad de clarificación.



Resultados de después de 8 días de clarificación. Ensayo realizado en 2013 en un vino de Merlot 2011.

*Referencias bibliográficas disponibles bajo demanda.



LAFFORT
l'œnologie par nature

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

Aspecto polvo

Color beige gris

ANÁLISIS QUÍMICOS

pH 6 a 8
Humedad < 12 %
Nitrógeno total > 10 %
Cenizas < 8 %
Dióxido de azufre < 50 mg/kg
Arsénico < 3 ppm
Cadmio < 1 ppm

Cromo < 10 ppm
Cobre < 35 ppm
Hierro < 150 ppm
Mercurio < 1 ppm
Plomo < 5 ppm
Zinc < 50 ppm

PROTOCOLO DE UTILIZACIÓN

CONDICIONES ENOLÓGICAS

- **En mosto:** el tratamiento se puede realizar antes o durante la fermentación.
- **En vino:** durante la clarificación.

DOSIS DE EMPLEO

- **En mostos blancos y rosados:**

Flotación: 3-10 g/hL; Encolado de mostos blancos y rosados de gota para la prevención de la oxidación: 10-20 g/hL; Encolado de mostos de prensa (baja presión) para eliminar los compuestos fenólicos oxidados: 20-30 g/hL.

- **En vinos tintos:**

Encolado de vinos tintos con el objetivo de estabilizar la materia colorante: 1-3 g/hL ; Encolado de vinos tintos para afinar la astringencia, reducir el amargor o las notas vegetales: 2-5 g/hL.

- **En vinos blancos:**

Encolado: 1-4 g/hL; Encolado de vinos blancos oxidados, eliminación del amargor y de desviaciones del color a tonalidades marrones: 5-20 g/hL.

- **Dosis máxima legal** (Código internacional de prácticas enológicas OIV): 50 g/hL.

MODO DE EMPLEO

Preparar **VEGECOLL®** en 10 veces su peso en agua (1 Kg por 10 L de agua) antes de su incorporación.

Una agitación fuerte puede provocar la formación de espuma. La solución en forma de emulsión debe ser utilizada en el transcurso del día. No preparar la solución directamente en el vino ya que esto provocaría una floculación directa con los compuestos del vino.

Después de la adición del clarificante, es necesario un remontado para una buena homogeneización del producto.

CONSERVACIÓN

- Almacenar el producto en un lugar seco, fresco y exento de olores extraños, embalaje cerrado, precintado de origen. Los embalajes abiertos deben ser utilizados lo más rápidamente posible.
- Fecha de uso recomendable: 2 años.

ENVASADO

Bolsa de 500 g, caja de 7,5 Kg.
Bolsa de 5 Kg.



LAFFORT
l'œnologie par nature



CS 61 611 – 33072 BORDEAUX CEDEX – Tél.: +33 (0)5 56 86 53 04 – www.laffort.com



Ficha Técnica



ViniGEL AT

Proteína de Origen Animal

Definición.

La gelatina, también llamada “osteocola”, es el clarificante más utilizado en enología. En el vino se presenta como un coloide con carga eléctrica positiva por lo que necesita de un coloide con carga eléctrica negativa para flocular.

Los diferentes tipos de gelatina se clasifican atendiendo a sus propiedades fisicoquímicas, tales como:

“*Poder de solubilidad*”, las gelatinas solubles en caliente presentan una masa molecular elevada, de igual forma las gelatinas solubles en frío contienen un valor más reducido.

“*Poder gelificante*”, es un índice para medir la calidad de la proteína, se expresa en unidades Bloom, donde se mide la resistencia en gramos que ofrece un gel de gelatina a ser penetrado por un punzón de 12,7 mm de diámetro y hasta una profundidad de 4 mm.

Características.

ViniGEL AT es una sustancia natural con propiedades clarificantes, se obtiene de sustancias colágenas por su cocción prolongada en “autoclave”.

El peso molecular de las fracciones que la componen varía entre los 20.000 y los 100.000 Dalton.

Composición.

Gelatina atomizada de origen porcino 0 Bloom.

Dosis.

Dosis aconsejada en vino:

Vinos Blancos: 2 – 7 g / Hl
Vinos Tintos: 6 – 15 g / Hl

Se recomienda realizar ensayos de laboratorio para determinar la dosis de empleo óptima, estimándose también la cantidad de floculante a utilizar.

Modo de empleo.

La preparación de las gelatinas sólidas antes de su adición al vino exige una disolución en agua a razón de una parte de gelatina por diez de agua, se recomienda la utilización de agua fría, la adición de la gelatina al agua debe producirse en agitación y continuar ésta hasta su completa disolución.

Se debe dejar hidratar y/o hinchar durante un tiempo no inferior a dos horas antes de ponerla en suspensión.

Incorporar la disolución al volumen total de vino a clarificar y agitar.

Es importante dejar actuar la gelatina durante un tiempo no inferior a 30 minutos antes de la adición de bentonita. En caso de utilizar como floculante sol de sílice (Silisol) o Tanino es indiferente. Insistir en adicionar una cantidad de floculante suficiente para evitar un posible sobreencolado.

Precauciones.

Se desaconseja conservar ViniGEL AT en forma de disolución por hidrolizarse y perder sus características iniciales.

Aplicaciones.

Clarificación de vinos blancos, rosados y tintos.

Bacteriología, medicina, cápsulas para medicamentos, adhesivos, fotografía, compuestos plásticos, seda artificial, fósforos, litografía, tejidos y papel, cementos y encalados.

Presentación.

Envase de 25 Kg

Conservación.

Conservar en el embalaje de origen en lugar fresco y seco, ausente de olores.

Registro.

R.G.S.A.: 31.00391/CR

Producto conforme con el Codex Enológico Internacional y el Reglamento EC 1.493/99.

Propiedades físico – químicas.

- ♦ Poder Gelificante [g Bloom]: 0
- ♦ Viscosidad [mPa · s]: 3,5 – 5,5
- ♦ Humedad [%]: < 8
- ♦ pH: 5,0 – 6,5
- ♦ Sustancias sulfito reductoras [ppm]: < 50
- ♦ Peróxidos [ppm]: < 10
- ♦ Cenizas [%]: < 2
- ♦ Recuento Total [col / g]: < 10.000

PRODUCTOS AGROVIN, S.A. Polígono Industrial Alces s/n, **13600 ALCAZAR DE SAN JUAN** (Ciudad Real). Tel.: 926 55 02 00 Fax: 926 54 62 54 (central@agrovin.com).



DELEGACIONES:

Pol. Ind. St. Pere Molanta, Avda. de Vilafranca 25, **08734 OLERDOLA** (Barcelona) Tel.: 93 892 39 67 Fax: 93 892 33 61 (catalunya@agrovin.com)
Ctra. de Zamora Km.8,5, **24231 ONZONILLA** (León) Tel.: 987 28 20 71 28 20 72 Fax: 987 28 20 73 (noroeste@agrovin.com)
Pol. Ind. Llano de Jarata Parc. 43-44 **14550 MONTILLA** (Córdoba) Tel.: 957 65 07 43 Fax: 957 65 63 33 (andalucia@agrovin.com)
Pol. Ind. Lenticares, Parc. 27 **26370 NAVARRETE** (La Rioja) Tel.: 941 227004 - 941 22 74 62 Fax: 941 20 78 15 (norte@agrovin.com)
Autovía A-3, Madrid-Valencia Km. 344 **46930 QUART DE POBLET** (Valencia) Tel.: 96 192 05 30 Fax: 96 192 05 97 (levante@agrovin.com)
Ctra. Gijón-Sevilla Km 313 **06200 ALMENDRALEJO** (Badajoz) Tel.: 924 66 61 12 Fax: 924 66 55 00 (lusitania@agrovin.com).

Ficha Técnica



ViniGEL GR

Proteína de Origen Animal

Definición.

La gelatina, también llamada “osteocola”, es el clarificante más utilizado en enología. En el vino se presenta como un coloide con carga eléctrica positiva por lo que necesita de un coloide con carga eléctrica negativa para flocular.

Los diferentes tipos de gelatina se clasifican atendiendo a sus propiedades fisicoquímicas, tales como:

“*Poder de solubilidad*”, las gelatinas solubles en caliente presentan una masa molecular elevada, de igual forma las gelatinas solubles en frío contienen un valor más reducido.

“*Poder gelificante*”, es un índice para medir la calidad de la proteína, se expresa en unidades Bloom, donde se mide la resistencia en gramos que ofrece un gel de gelatina a ser penetrado por un punzón de 12,7 mm de diámetro y hasta una profundidad de 4 mm.

Características.

ViniGEL GR es una sustancia natural con propiedades clarificantes, se obtiene de sustancias colágenas por su cocción prolongada en “autoclave”.

El peso molecular de las fracciones que la componen varía entre los 60.000 y los 140.000 Dalton.

Composición.

Gelatina granulada de origen porcino 80 – 100 Bloom.

Dosis.

Dosis aconsejada en vino:

Vinos Blancos: 3 – 5 g / Hl
Vinos Tintos: 6 – 15 g / Hl

Se recomienda realizar ensayos de laboratorio para determinar la dosis de empleo óptima, estimándose también la cantidad de floculante a utilizar.

Modo de empleo.

La preparación de las gelatinas sólidas antes de su adición al vino exige una disolución en agua a razón de una parte de gelatina por diez de agua, se recomienda la utilización de agua tibia a 35 °C, la adición de la gelatina al agua debe producirse en agitación y continuar ésta hasta su completa disolución.

Se debe dejar hidratar y/o hinchar durante un tiempo no inferior a dos horas antes de ponerla en suspensión.

Incorporar la disolución al volumen total de vino a clarificar y agitar.

Es importante dejar actuar la gelatina durante un tiempo no inferior a 30 minutos antes de la adición de bentonita. En caso de utilizar como floculante sol de sílice (Silisol) o Tanino es indiferente. Insistir en adicionar una cantidad de floculante suficiente para evitar un posible sobreencolado.

Precauciones.

Se desaconseja conservar ViniGEL GR en forma de disolución por hidrolizarse y perder sus características iniciales.

Aplicaciones.

Clarificación de vinos blancos, rosados y tintos.

Bacteriología, medicina, cápsulas para medicamentos, adhesivos, fotografía, compuestos plásticos, seda artificial, fósforos, litografía, tejidos y papel, cementos y encalados.

Presentación.

Envase de 25 Kg

Conservación.

Conservar en el embalaje de origen en lugar fresco y seco, ausente de olores.

Registro.

R.G.S.A.: 31.00391/CR

Producto conforme con el Codex Enológico Internacional y el Reglamento EC 1.493/99.

Propiedades físico – químicas.

- ♦ Poder Gelificante [g Bloom]:80 – 100
- ♦ Viscosidad [mps]: 15 – 28
- ♦ Humedad [%]: < 12
- ♦ pH: 4,0 – 6,0
- ♦ Cenizas [%]: < 2
- ♦ Recuento Total [col / g]: < 1000

PRODUCTOS AGROVIN, S.A. Polígono Industrial Alces s/n, **13600 ALCAZAR DE SAN JUAN** (Ciudad Real). Tel.: 926 55 02 00 Fax: 926 54 62 54 (central@agrovin.com).

DELEGACIONES:



Pol.Ind. St. Pere Molanta, Avda. de Vilafranca 25, **08734 OLERDOLA** (Barcelona) Tel.: 93 892 39 67 Fax: 93 892 33 61 (catalunya@agrovin.com)
Ctra. de Zamora Km.8,5, **24231 ONZONILLA** (León) Tel.: 987 28 20 71 28 20 72 Fax: 987 28 20 73 (noroeste@agrovin.com)
Pol. Ind. Llano de Jarata Parc. 43-44 **14550 MONTILLA** (Córdoba) Tel.: 957 65 07 43 Fax: 957 65 63 33 (andalucia@agrovin.com)
Pol. Ind. Lentiscars, Parc. 27 **26370 NAVARRETE** (La Rioja) Tel.: 941 227004 - 941 22 74 62 Fax: 941 20 78 15 (norte@agrovin.com)
Autovia A-3, Madrid-Valencia Km. 344 **46930 QUART DE POBLET** (Valencia) Tel.: 96 192 05 30 Fax: 96 192 05 97 (levante@agrovin.com)
Ctra. Gijón-Sevilla Km 313 **06200 ALMENDRALEJO** (Badajoz) Tel.: 924 66 61 12 Fax: 924 66 55 00 (lusitania@agrovin.com).